

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

(19) **RÉPUBLIQUE FRANÇAISE**
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) **N° de publication :** **2 605 185**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **87 14303**

(51) **Int Cl⁴ :** A 01 N 65/00; C 05 G 3/00.

(12) **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

A1

(22) **Date de dépôt :** 16 octobre 1987.

(30) **Priorité :** JP, 17 octobre 1986, n° 61-245400/86;
3 mars 1987, n° 61-48385/87.

(43) **Date de la mise à disposition du public de la
demande :** BOPI « Brevets » n° 16 du 22 avril 1988.

(60) **Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :**

(71) **Demandeur(s) :** *Société dite : Meiji Seika Kaisha, Ltd.*
— JP.

(72) **Inventeur(s) :** Takashi Adachi ; Takafumi Ishii ; Hide-
masa Hidaka.

(73) **Titulaire(s) :**

(74) **Mandataire(s) :** Société de Protection des Inventions.

(54) **Procédé de culture des plantes.**

(57) **Procédé de culture des plantes consistant à utiliser un
oligosaccharide accélérant la croissance des plantes.**

L'oligosaccharide peut être appliqué sur les semences, sur la
surface des feuilles, dans le sol ou avec un engrais.

FR 2 605 185 - A1

D

Vente des fascicules à l'IMPRIMERIE NATIONALE, 27, rue de la Convention — 75732 PARIS CEDEX 15

PROCEDE DE CULTURE DES PLANTES

La présente invention concerne un procédé de culture des plantes, capable de produire efficacement des produits agricoles en accélérant la croissance des plantes par application aux plantes ou au sol des produits de décomposition d'un polysaccharide qui est spécifiquement choisi du point de vue de son action d'accélération de la croissance des plantes ou d'un oligosaccharide qui est le constituant principal des produits de décomposition ci-dessus.

Un problème important pour la production de produits agricoles en accélérant la croissance des plantes agricoles est d'augmenter le rendement par une unité de surface et d'augmenter encore le nombre de récoltes. Comme matières accélérant la croissance des plantes, on a signalé des phytohormones telles que la gibberelline et l'auxine, mais ces phytohormones exercent diverses actions sur les plantes ; certaines actions des phytohormones sont utiles pour une plante, mais d'autres actions sont parfois nuisibles pour celle-ci, et par conséquent, l'utilisation pratique de ces phytohormones est limitée à des cas particuliers.

D'autre part, on a récemment signalé qu'un oligosaccharide obtenu par décomposition d'un polysaccharide constituant les parois cellulaires des plantes jouait un rôle important comme matière pour contrôler la défense de l'hôte et pour induire la différenciation de la plante elle-même.

Par exemple, il a été indiqué que l'acide oligogalacturonique, lorsqu'il est appliqué au soja, exerce une action d'accélération de la synthèse

d'un certain type de matières anti-bactériennes (Phylo alexine) pour augmenter la résistance du soja aux germes pathogènes ; au contraire, un oligosaccharide (xyloglucane) préparé à partir de la paroi cellulaire de l'érable a pour effet de limiter l'action d'accélération de la croissance de l'auxine sur le jeune plant du pois.

Comme il a été indiqué ci-dessus, l'action des oligosaccharides est assez spécifique, contrairement à celle d'une phytohormone.

Le but de l'invention est d'augmenter le rendement de la production des produits agricoles en appliquant à celle-ci un oligosaccharide particulier exerçant une action d'accélération de la croissance des plantes, choisi parmi divers oligosaccharides.

A la suite de diverses études sur des oligosaccharides exerçant une action d'accélération de la croissance des plantes pour atteindre le but de l'invention précité, la demanderesse a découvert ce fait nouveau que certains des produits de décomposition obtenus en décomposant des polysaccharides par un acide ou une enzyme ou des oligosaccharides qui sont les constituants principaux des produits de décomposition, exercent une action d'accélération de la croissance des racines, des tiges et des feuilles des plantes, et elle a réussi à réaliser la présente invention sur la base de cette découverte.

Conformément à cette invention, il est fourni un procédé pour cultiver une plante, qui consiste à utiliser un oligosaccharide exerçant une action d'accélération de la croissance de la plante lors de la culture de la plante.

Les polysaccharides qui peuvent être utilisés comme matière première pour l'oligosaccharide de l'invention, comprennent divers polysaccharides produits par des microorganismes (par exemple, des rhizobactéries de la zone d'enracinement), l'acide alginique, le xylane, les polysaccharides des parois cellulaires des plantes, l'acide polygalacturonique, la pectine, le glucomannan, l'agarose, la cellulose, l'inuline, le mannan, la fucoidine, la gomme arabique, l'acide polyéthylène glycol alginique, la carraghénine, etc. C'est un fait nouveau, qui n'était pas connu jusqu'à présent que les produits de décomposition de ces polysaccharides ou oligosaccharides qui sont les constituants principaux de ces produits de décomposition ont une action d'accélération de la croissance des plantes.

Comme plantes appropriées pour l'utilisation dans le procédé de l'invention, on citera des plantes vertes telles que le Kaiware Daikon (radis à cotylédon qui est un radis ayant grandi artificiellement et possédant des tiges blanches et un cotylédon), le persil de pierre (*Cryptotaenia japonica* Hassk), le chou de chine, la laitue, l'épinard, le radis, la pomme de terre, le taro, etc., des céréales telles que le riz, le blé, le maïs, etc., et d'autres produits agricoles tels que des pétales, des fruits, etc.

L'oligosaccharide ayant une action d'accélération de la croissance des plantes, désigne ici un produit de décomposition des polysaccharides énumérés ci-dessus, ou un produit naturel contenant ce produit avec un acide ou une enzyme, ou l'oligosaccharide qui est le constituant principal

du produit de décomposition et est défini comme une matière exerçant une action d'accélération de la croissance des plantes. L'oligosaccharide de l'invention est par exemple défini pour chaque substance de la manière suivante :

(1) Oligosaccharide d'acide alginique :

Cet oligosaccharide est une composition d'oligosaccharides obtenue en décomposant l'acide alginique, l'alginat de sodium, des algues contenant de l'acide alginique, tels que le boudard de Neptune (laminaire), etc., un polysaccharide provenant de microorganismes, etc., avec une enzyme telle que la lyase de l'acide alginique, etc., ou en hydrolysant la matière décrite ci-dessus par un acide tel que l'acide chlorhydrique, etc., et les principaux saccharides constituant les oligosaccharides sont l'acide guluronique et/ou l'acide mannuronique. La composition d'oligosaccharides de l'acide alginique comprend seulement de l'acide guluronique ou seulement de l'acide mannuronique ayant un degré de polymérisation de 2 à 20, ou les oligosaccharides constitués d'une combinaison de l'acide guluronique et de l'acide mannuronique, une composition composée d'acide guluronique et d'acide mannuronique, ou encore une composition obtenue en chauffant la composition ci-dessus pendant 15 à 180 minutes à une température de 100 à 130°C à un pH de 1 à 3.

La composition décrite ci-dessus est préparée par exemple comme suit :

Comme acide alginique utilisable comme matière première, on peut utiliser n'importe quelle matière première contenant de l'acide alginique, par exemple un acide alginique ou un alginat de sodium du commerce ; des algues contenant de l'acide

alginique telles que *Laminaria*, *Ecklonia* cava
Lessonia *Durvillae*, etc. ; un polysaccharide analogue
à l'acide alginique produit par des microorganismes
tels que *Pseudomonas*, etc.

5 Dans la description, les parties et
pourcentages sont tous en poids sauf indications
contraires.

Comme moyen pour décomposer l'acide
alginique, on peut utiliser un procédé de
10 décomposition par un acide tel que l'acide
chlorhydrique, l'acide sulfurique, etc., et un
procédé de décomposition par une enzyme telle que
la lyase de l'acide alginique, etc. Dans le cas
de la décomposition de l'acide alginique par un
15 acide, on peut préparer par exemple l'oligosaccharide
de l'acide alginique en ajoutant 100 parties d'eau
à 5 parties d'alginate de sodium pour dissoudre
l'acide alginique, en leur ajoutant 3 parties d'acide
chlorhydrique concentré, et, après avoir hydrolysé
20 l'acide alginique pendant 2 à 4 heures à 90 à 100°C,
en filtrant le mélange réactionnel, en neutralisant
le filtrat ainsi obtenu avec de l'hydroxyde de
sodium et en concentrant le produit neutralisé.
Dans le cas de la décomposition de l'acide alginique
25 par la lyase de l'acide alginique, on peut préparer
par exemple l'oligosaccharide de l'acide alginique
en ajoutant 100 parties d'eau à 5 parties d'alginate
de sodium pour dissoudre l'acide alginique, en
ajustant le pH de la solution à la valeur optimale
30 pour l'action de l'enzyme, en lui ajoutant une
enzyme à raison de 100 à 4 000 unités par gramme
d'alginate de sodium, et en faisant réagir les
deux constituants pendant 24 à 48 heures à la
température optimale pour l'action de l'enzyme.

Lorsqu'une enzyme du tube digestif de l'ormeau (Abalone Acetone Powder, marque commerciale fabriquée par Merck & Co., Inc.) est utilisée comme lyase de l'acide alginique, le pH optimal pour l'action de l'enzyme est de 7 à 8, et la température optimale est de 20 à 35°C.

L'activité enzymatique de la lyase de l'acide alginique capable d'augmenter l'absorbance du système à 230 mn de 0,01 en 30 minutes lorsqu'on fait agir l'enzyme sur une solution aqueuse d'alginate de sodium à 0,2 % à 30°C et à pH de 7,0, est définie comme 1 unité.

Dans le cas de la préparation de l'oligosaccharide directement à partir des algues, l'oligosaccharide de l'acide alginique peut être produit directement, par exemple à partir du boudrier de Neptune (Laminaire) en ajoutant 1 300 parties d'eau à 40 parties de boudrier de Neptune sec, après avoir ajusté le pH du mélange à 11, en pulvérisant le boudrier de Neptune au moyen d'un homogénéiseur, en chauffant le mélange à 60°C pendant 3 heures, après avoir ajusté son pH à 5,5, en ajoutant de la cellulase (Meicellase, marque commerciale, fabriquée par la Société Meiji Seika Kaisha, Ltd.) à raison de 0,5 % par rapport aux matières solides, en effectuant la réaction pendant 20 heures à 40°C, en ajustant le pH du mélange réactionnel à 7,0, en lui ajoutant de la lyase de l'acide alginique à raison de 1 000 unités par gramme des constituants solides, puis en effectuant la réaction pendant 48 heures à 30°C.

L'oligosaccharide de l'acide alginique ainsi obtenu est principalement composé d'acide mannuronique et d'acide guluronique, et c'est l'une

quelconque des compositions comprenant de l'acide guluronique seulement ou de l'acide mannuronique seulement ayant un degré de polymérisation de 2 à 20, ou l'oligosaccharide composé d'une combinaison
5 d'acide guluronique et d'acide mannuronique, ou un mélange de l'acide guluronique et de l'acide mannuronique.

La teneur en oligosaccharide de l'acide alginique dans les produits de décomposition obtenus
10 comme il a été décrit ci-dessus dépend de la nature de la matière première utilisée, mais lorsqu'on prépare les produits de décomposition, par exemple par décomposition enzymatique de l'alginate de sodium comme matière première, la teneur en
15 oligosaccharide de l'acide alginique est de 40 à 100 % des constituants solides présents dans les produits. De même, dans le cas où l'on utilise une algue telle que le boudrier de Neptune comme matière première, sa teneur est de 10 à 20 % des
20 constituants solides.

Lorsque l'oligosaccharide de l'acide alginique ainsi obtenu est appliqué à des plantes en revêtant des semences de celui-ci, en l'ajoutant au sol ou en le pulvérisant sur les surfaces des
25 feuilles sous forme de solutions aqueuses à 0,25-0,00025 %, ou en l'ajoutant à un engrais liquide pour hydrocultures, la croissance de la racine ou des parties aériennes des plantes est accélérée, ce qui conduit à une amélioration du rendement
30 des produits agricoles. Dans ce cas, il a en outre été établi clairement que l'action ci-dessus est encore augmentée par un traitement thermique de la composition obtenue comme il a été décrit ci-dessus à une température de 100 à 120°C et à un
35 pH de 1 à 3, et de préférence de 2,0 à 3,0 pendant

15 à 180 minutes. En outre, l'acide alginique ou l'aginate de sodium non décomposé n'ont donné lieu à aucune action d'accélération de la croissance des plantes, comme le montre l'exemple 1 ci-après.

5 (2) Xylooligosaccharide :

Le xylooligosaccharide est un produit de décomposition (ou un oligosaccharide de son constituant principal) formé en décomposant le β -1,3-xylane, le β -1,4-xylane, ou les constituants hémicellulosiques de légumes ou de plantes contenant des xylanes, tels que les épis de maïs, la paille de riz, le bois, etc., ou des algues appartenant aux algues rouges (Rhodophycées) ou aux algues vertes (Chlorophycées) telles que Rhodymenia palmata, Caulerpa racemosa, etc., par un acide tel que l'acide chlorhydrique, etc., ou une enzyme telle que la xylanase, etc. Le saccharide constituant l'oligosaccharide est principalement du xylose contenant de faibles quantités d'acide uronique, de rhamnose, etc., et le xylooligosaccharide est l'oligosaccharide précité ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 ou une composition le contenant.

L'oligosaccharide tel que décrit ci-dessus se prépare par exemple de la manière suivante. Après avoir ajusté le pH d'une solution aqueuse à 2,5 % (P/V) de xylane du commerce à 5,0, on ajoute à la solution de la Meicellase (marque commerciale, fabriquée par la Société Meiji Seika Kaisha, Ltd.) en tant qu'enzyme contenant de la xylase, à raison de 10 mg par gramme de xylase et fait réagir le mélange pendant 48 heures à 40°C. Dans le mélange réactionnel, il se forme 66 % d'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 7 et 34 % d'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation

d'au moins 8. Le fractionnement des oligosaccharides pourrait être effectué par filtration. Par exemple, les oligosaccharides ayant un degré de polymérisation de 2 à 7 pourraient être isolés du mélange réactionnel par chromatographie sur colonnes en utilisant une colonne remplie de Biogel P-2 (marque commerciale, fabriquée par Biorad Laboratories, California, USA).

Le xylane est un polysaccharide contenant du xylose comme constituant saccharide, et il contient le β -1,4-xylane, dans lequel la liaison entre les xyloses est principalement une liaison β -1,4, et le β -1,3-xylane dans lequel la liaison entre les xyloses est principalement une liaison β -1,3. De même, le β -1,4-xylane existe dans les épis de maïs, dans la paille de riz, dans l'hémicellulose A, constituant des plantes terrestres, et le β -1,3-xylane existe dans les algues rouges telles que Rhodymenia palmata, etc. ou dans des algues vertes telles que Caulerpa racemosa, etc. Le xylooligosaccharide obtenu en décomposant un tel xylane par un acide ou une enzyme est appelé β -1,3-xylooligosaccharide ou β -1,4-xylooligosaccharide.

(3) Oligosaccharide obtenu par décomposition de polysaccharides des parois cellulaires de plantes :

Le polysaccharide des parois cellulaires d'une plante est la paroi cellulaire elle-même de la plante ou des polysaccharides existant dans les cellules, et c'est un mélange de polysaccharides tels que la cellulose, le xyloglucane, le xylane, le β -glucane, l'arabinane, l'arabinogalactane, le rhamnogalacturonane, la pectine, l'arabinoxylane, l'acide polygalacturonique, le galactane, etc.

L'oligosaccharide est constitué des produits de décomposition d'un tel polysaccharide de parois cellulaires par un acide ou une enzyme ou un oligosaccharide comme constituant principal des produits de décomposition. Les saccharides constituant le polysaccharide sont le glucose, le xylose, l'arabinose, le rhamnose, le galactose, l'acide galacturonique, des dérivés de l'acide galacturonique, le mannose, etc., et c'est un mélange d'oligosaccharides ayant des degrés de polymérisation de 2 à 10.

Un tel oligosaccharide se prépare comme suit :

Comme matière première pour le polysaccharide des parois cellulaires, on citera la plante elle-même, le cal obtenu à partir d'une plante, un fluide de culture obtenu en cultivant un cal, etc. En outre, un extrait obtenu en appliquant un pré-traitement tel qu'un broyage à une plante et en extrayant les polysaccharides de la plante broyée avec de l'eau, une solution alcaline aqueuse, une solution saline aqueuse neutre, etc., ainsi que des polysaccharides séparés de l'extrait ci-dessus en utilisant un solvant organique tel qu'un alcool, etc., puis en effectuant une purification, peut également être utilisée comme matière première.

Le polysaccharide ainsi obtenu est dissous dans de l'eau pour former une solution aqueuse ayant une concentration de 1 à 5 %, et après lui avoir ajouté un acide tel que l'acide chlorhydrique à une concentration de 1 à 5 %, on l'hydrolyse pendant 1 à 4 heures à 80 à 100°C, grâce à quoi l'oligosaccharide peut être formé dans le liquide

décomposé. Dans le cas de l'utilisation d'une plante ou d'un cal comme matière première, on peut préparer un liquide contenant l'oligosaccharide en broyant la plante ou le cal, en ajoutant de 1 à 5 % d'un
5 acide tel que l'acide chlorhydrique, etc., au produit broyé pour effectuer l'hydrolyse pendant 1 à 6 heures à 80 à 100°C, et, après avoir neutralisé le produit hydrolysé, en éliminant les résidus décomposés du produit par filtration, etc. Dans
10 le cas de la décomposition par une enzyme, l'oligosaccharide peut aussi être obtenu en ajustant le pH d'une solution aqueuse de 1 à 5 % de polysaccharide de parois cellulaires obtenue comme il a été décrit ci-dessus ou le produit broyé d'une
15 plante ou d'un cal, au pH optimum pour l'action de l'enzyme utilisée et en le décomposant avec l'enzyme pendant 4 à 48 heures dans des conditions optimales de températures pour l'action de l'enzyme. Comme enzyme qui peut être utilisée à cet effet,
20 on utilise de préférence une enzyme ayant des activités de décomposition pour divers types de substrats, car le polysaccharide de parois cellulaires contient divers types de polysaccharides, et comme enzyme satisfaisant à ces conditions,
25 on préfère particulièrement une préparation de cellulase. Des exemples d'une telle enzyme sont la Meicellase (marque commerciale, fabriquée par la Société Meiji Seika Kaisha, Ltd.) La Cellulase Onozuka R-10 (marque commerciale, fabriquée par
30 la Société Kinki Yakult Seizo K. K.), la Cellulase Ap (marque commerciale, fabriquée par la Société Amano Seiyaku K. K.), le Macerozyme (marque commerciale, fabriqué par la Société Yakult Co., Ltd.), etc. On préfère que la quantité d'enzyme
35 ajoutée soit de 1 mg à 50 mg par gramme de polysaccharide utilisé comme substrat.

(4) Oligosaccharide de l'acide polygalacturonique :

Cet oligosaccharide est un produit de décomposition obtenu en décomposant l'acide polygalacturonique avec un acide ou une enzyme ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. Le saccharide qui le constitue est l'acide galacturonique, le degré de polymérisation de l'oligosaccharide est de 2 à 10. L'oligosaccharide se prépare de la manière suivante :

On dissout l'acide polygalacturonique dans de l'eau pour former une solution aqueuse à 2 % d'acide polygalacturonique, on ajoute à la solution de l'acide chorhydrique à une concentration de 2 %, et après avoir effectué l'hydrolyse de l'acide pendant 3 heures à une température de 90 à 100°C, on neutralise le mélange réactionnel ainsi obtenu, on élimine par filtration les résidus de décomposition du mélange réactionnel et on concentre le filtrat obtenu, ce qui donne une solution aqueuse contenant un oligosaccharide de l'acide polygalacturonique.

Dans le cas de la décomposition avec une enzyme, l'oligosaccharide peut se préparer en ajustant le pH d'une solution aqueuse à 2 % d'acide polygalacturonique à 5,0, en y ajoutant de la pectinase à raison de 10 mg par gramme du substrat, puis en décomposant l'acide pendant 6 heures à 50°C.

La solution contenant l'oligosaccharide ainsi obtenue peut, si nécessaire, être décolorée par du carbone actif ou purifié par filtration sur gel ou par une résine échangeuse d'ions, suivant l'utilisation à laquelle elle est destinée.

(5) Oligosaccharide de pectine :

Cet oligosaccharide est un produit de décomposition obtenu en décomposant la pectine avec un acide ou une enzyme, ou il est un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition.

Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont l'acide galacturonique et l'ester méthylque de l'acide galacturonique, et son degré de polymérisation est de 2 à 10.

L'oligosaccharide de pectine peut se préparer de la même manière que dans le cas de la préparation de l'oligosaccharide d'acide polygalacturonique décrite ci-dessus.

(6) Oligosaccharide de glucomannane :

Cet oligosaccharide est un produit de décomposition obtenu en hydrolysant du glucomannane ou du konjac (*Amorphophallus konjac* C. Koch) contenant du glucomannane avec une enzyme capable d'utiliser le glucomannane comme substrat, tel que l'endo-1, 4- β -D-mannase, etc., ou en hydrolysant la matière ci-dessus avec un acide tel que l'acide chlorhydrique, etc. ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition.

Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont le mannose et le glucose. L'oligosaccharide de glucomannane comprend l'oligosaccharide décrit ci-dessus ayant un degré de polymérisation de 2 à 10, et une composition contenant l'oligosaccharide.

L'oligosaccharide peut se préparer par exemple de la manière suivante :

Comme matière première, on peut utiliser du glucomannane ou du konjac contenant du glucomannane. Pour décomposer le glucomannane,

on peut appliquer un procédé de décomposition de celui-ci par une enzyme telle que la mannase, etc. Par exemple, l'oligosaccharide de glucomannane peut se préparer en ajoutant 100 parties d'eau à 2 parties de glucomannane pour former une solution aqueuse de glucomannane, en lui ajoutant 3 parties d'acide chlorhydrique concentré, en effectuant l'hydrolyse pendant 1 à 4 heures à 90 à 100°C, en filtrant le mélange réactionnel et, après avoir neutralisé le filtrat ainsi formé avec de l'hydroxyde de sodium, en concentrant le filtrat.

Dans le cas de la décomposition par la mannase, l'oligosaccharide peut aussi se préparer en dissolvant deux parties de glucomannane dans 100 parties d'eau, en ajustant le pH de la solution à la valeur optimale pour l'action de l'enzyme, et en effectuant la réaction pendant 10 à 48 heures à la température optimale pour l'action de l'enzyme. Comme mannase, on peut utiliser une enzyme produite par Rhizopus niveus, une enzyme produite par Aspergillus niger, une préparation de cellulase du commerce ayant une activité de mannase, etc.

Le mélange réactionnel obtenu comme il a été décrit ci-dessus peut être décoloré en utilisant du carbone actif, etc., ou désalinisé en utilisant une résine échangeuse d'ions.

Le glucomannane est également appelé "kojac manna" et les saccharides le constituant sont le glucose et le mannose. L'oligosaccharide obtenu en décomposant ces polysaccharides est un hétéro-oligosaccharide composé de glucose et de mannose, dont le type est l'épicellobiose (O- β -D-glucopyranasyl-(1-4)-D-mannopyranase).

(7) Oligosaccharide de l'agar-agar :

Cet oligosaccharide est le produit de décomposition formé en décomposant l'agar-agar, l'agarose, l'agaropectine, ou des algues appartenant aux algues rouges et contenant le constituant ci-dessus, telles que *Gelidium amansii* Lamouroux, etc., avec un acide tel que l'acide chlorhydrique, etc., ou une enzyme telle que l'agarase, etc., ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont le galactose, le 3, 6-anhydrogalactose, le 6-0-méthylgalactose, le xylose, et l'acide glucuronique. L'oligosaccharide de l'agar-agar comprend l'oligosaccharide ci-dessus ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 et une composition contenant l'oligosaccharide.

L'oligosaccharide est préparé par exemple de la manière suivante :

Le pH d'une solution aqueuse 1 % (P/V) d'agarose du commerce est ajusté à 6,0, de l'agarase est ajoutée à la solution à raison de 40 unités par gramme d'agarose, et, après avoir effectué la réaction pendant 72 heures à 40°C, on décolore le mélange réactionnel obtenu. Ensuite, par désalinisation avec une résine échangeuse d'ions, on obtient l'oligosaccharide de l'agar-agar.

(8) Oligosaccharide cellulaire :

Cet oligosaccharide est le produit de décomposition obtenu en hydrolysant la cellulose, une matière de squelette d'une plante contenant de la cellulose, les membranes cellulaires de microorganismes, les membranes d'enveloppes d'un ascidien (*Viscum album*, L.), un ascidien de Booshuu, etc., ou un dérivé de la cellulose, tel que la

carboxyméthyl cellulose, etc., avec une enzyme telle que la cellulase, etc., ou un acide tel que l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, etc., ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition.

Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont le glucose et ses dérivés. L'oligosaccharide cellulaire comprend l'oligosaccharide ci-dessus ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 et une composition de l'oligosaccharide.

Une telle composition se prépare par exemple de la manière suivante. Après avoir ajouté deux parties d'acide chlorhydrique et deux parties d'acide sulfurique à une partie de cellulose pulvérisée (Avicell, marque commerciale, fabriquée par Asahi Kasei Kogyo Co., Ltd) comme matière première pour dissoudre la cellulose, on ajoute encore 12 parties d'acide chlorhydrique à la solution et on effectue la réaction pendant 5 heures à 20 à 25°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel obtenu, on le désalinise de la manière ordinaire, par exemple par filtration sur gel et électrodialyse, on le concentre et, si nécessaire, on le sèche, ce qui donne l'oligosaccharide cellulaire.

(9) Oligosaccharide de l'inuline :

Cet oligosaccharide est un produit de décomposition obtenu en hydrolysant l'inuline ou Helianthus tuberosus L. contenant de l'inuline avec de l'inulase ou un acide tel que l'acide chlorhydrique, l'acide oxalique, etc., ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. Les saccharides

constituant l'oligosaccharide sont le fructose et le glucose. L'oligosaccharide de l'inuline comprend l'oligosaccharide décrit cidessus ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 et une composition de celui-ci.

L'oligosaccharide se prépare par exemple de la manière suivante :

Après avoir ajouté 4 parties d'eau à une partie de *Helianthus tuberosus* L. puis l'avait broyé, on y ajoute de l'acide oxalique à une concentration finale de 0,1 N et on effectue l'hydrolyse pendant 1 heure à 60°C. On neutralise ensuite le mélange réactionnel avec du carbonate de calcium et, après avoir éliminé les résidus par filtration, on concentre le filtrat et, si nécessaire, on le sèche, ce qui donne l'oligosaccharide de l'inuline.

(10) Oligosaccharide du mannane :

Cet oligosaccharide est un produit de décomposition du mannane (β -1,4-mannane, β -1,3-mannane, α -1,6-mannane, etc.), la semence de *Phytelephas macrocarpa* contenant du mannane, *Codium mucronatum*, produit métabolisé des levures ou des moisissures, etc., avec un acide ou une enzyme telle que la mannase, etc., ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. Le saccharide constituant l'oligosaccharide est le mannose. L'oligosaccharide du mannane comprend l'oligosaccharide décrit ci-dessus ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 et une composition contenant l'oligosaccharide.

L'oligosaccharide se prépare par exemple de la manière suivante :

Après avoir dissous 4 parties de mannane de levure dans 100 parties d'eau chaude, on ajoute

à la solution 100 parties d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 N et on effectue l'hydrolyse pendant 2 heures à 90 à 100°C.

Lorsque la réaction est terminée, on
5 neutralise le mélange réactionnel, ce qui donne le produit de décomposition. Si nécessaire, l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 peut être séparé du mélange réactionnel par chromatographie sur colonnes en utilisant une
10 colonne remplie de Biogel P-2.

(11) Oligosaccharide de fucoïdane :

Cet oligosaccharide est le produit de
décomposition de la fucoïdane ou de l'acide fucane
sulfurique par un acide ou une enzyme, ou un
15 oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. Le saccharide le constituant est le fucose. L'oligosaccharide de fucoïdane comprend l'oligosaccharide décrit ci-dessus ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 et une
20 composition contenant l'oligosaccharide.

L'oligosaccharide est préparé par exemple de la manière suivante :

Après avoir dissous 4 parties de fucoïdane provenant d'algues brunes (Phaéophycées) dans 100
25 parties d'eau chaude, on ajoute à la solution 100 parties d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 N et on effectue l'hydrolyse pendant 2 à 4 heures à 90 à 100°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel, ce qui donne
30 le produit de décomposition. On peut aussi, si nécessaire, séparer l'oligosaccharide d'un degré de polymérisation de 2 à 10 du produit de la réaction par une chromatographie sur colonne utilisant une colonne remplie de Biogel P-2.

(12) Oligosaccharide de gomme arabique :

Cet oligosaccharide est un produit de décomposition obtenu en décomposant la gomme arabique avec un acide ou une enzyme ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont le galactose, l'arabinose, le rhamnose et l'acide glucuronique. L'oligosaccharide de gomme arabique comprend l'oligosaccharide décrit ci-dessus, ayant un degré de polymérisation de 2 à 10, et une composition contenant l'oligosaccharide.

L'oligosaccharide est préparé par exemple de la manière suivante :

Après avoir dissous 4 parties de gomme arabique dans 100 parties d'eau chaude, on ajoute à la solution 100 parties d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 N et on effectue l'hydrolyse pendant 2 heures à 90 à 100°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel pour obtenir le produit de décomposition. Si nécessaire, on peut aussi séparer l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 du produit de la réaction par une chromatographie sur colonne utilisant une colonne remplie de Biogel P-2.

(13) Oligosaccharide de l'acide polyéthylène glycol alginique :

Cet oligosaccharide est un produit de décomposition obtenu en décomposant l'acide polyéthylène glycol alginique avec un acide ou une enzyme, ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont l'acide polyéthylène glycol guluronique et l'acide polyéthylène glycol mannuronique. L'oligosaccharide

de l'acide polyéthylène glycol alginique comprend l'oligosaccharide décrit ci-dessus ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 et une composition contenant l'oligosaccharide.

5 L'oligosaccharide se prépare par exemple de la manière suivante :

Après avoir dissous 4 parties d'acide polyéthylène glycol alginique dans 100 parties d'eau chaude, on ajoute à la solution 100 parties
10 d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 N et on effectue l'hydrolyse pendant 2 à 4 heures à 90 à 100°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel, ce qui donne le produit de décomposition. Si nécessaire, on
15 peut aussi séparer l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 du produit de décomposition par une chromatographie sur colonne utilisant une colonne remplie de Biogel P-2.

(14) Oligosaccharide de carraghénine :

20 Cet oligosaccharide est un produit de décomposition obtenu en décomposant la carraghénine ou des algues rouges appartenant au genre Chondrus crispus, au genre Cigartina tenella, au genre Hypneaceae, etc., avec un acide ou une enzyme,
25 ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. Le saccharide constituant l'oligosaccharide est un polymère du carrabiose. L'oligosaccharide de la carraghénine comprend l'oligosaccharide ci-dessus ayant un degré
30 de polymérisation de 2 à 10 et une composition contenant l'oligosaccharide.

L'oligosaccharide est préparé par exemple de la manière suivante :

Après avoir dissous 4 parties de carraghénine dans 100 parties d'eau chaude, on ajoute à la solution 100 parties d'une solution aqueuse 1 N d'acide chlorhydrique et on effectue l'hydrolyse pendant 2 heures à 90 à 100°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel pour obtenir le produit de décomposition. Si nécessaire, on peut aussi séparer l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 du produit de décomposition par une chromatographie sur colonne utilisant une colonne remplie de Biogel P-2.

(15) Oligosaccharide obtenu par décomposition d'un polysaccharide produit par des microorganismes :

Cet oligosaccharide est un produit de décomposition obtenu en décomposant le polysaccharide produit par des microorganismes appartenant au genre Azotobacter, au genre Enterobacter, au genre Agrobacterium, au genre Rhizobium, au genre Pseudomonas, au genre Xanthomonas, au genre Zoogloea, au genre Aspergillus, au genre Saccharomyces, etc., avec un acide ou une enzyme, ou un oligosaccharide qui est le constituant principal du produit de décomposition. L'oligosaccharide possède aussi une action d'accélération de la croissance des plantes. L'oligosaccharide est généralement préparé de la manière suivante :

L'oligosaccharide est préparé en cultivant des microorganismes produisant le polysaccharide extracellulaire désiré dans un milieu de culture contenant une source de carbone telle que saccharose, maltose, glucose, lactose, glycérol, etc., et une source d'azote telle qu'extrait de levure, peptone, sulfate d'ammonium, etc., en même temps si nécessaire

que des vitamines, des sels minéraux, etc., après avoir éliminé les cellules de mycélium, par un moyen tel que séparation centrifuge, filtration, etc., en ajoutant un solvant organique tel qu'éthanol, méthanol, acétone, etc., au liquide surnageant à raison de 2 à 4 parties en volume pour 1 partie du liquide surnageant pour précipiter et séparer le polysaccharide formé ou en concentrant le polysaccharide par ultrafiltration, puis en décomposant le polysaccharide ainsi séparé ou concentré avec addition d'un acide. Comme acide, on utilise l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, etc., à une concentration de 0,1 N à 1,0 N. La température de réaction pour la décomposition du polysaccharide est de 50°C à 120°C et le temps de réaction est de 10 minutes à 10 heures. Ces conditions sont choisies de manière appropriée en fonction du type du polysaccharide.

Le produit de décomposition ainsi obtenu peut être utilisé tel quel aux fins de la présente invention, mais il est possible de séparer et de purifier l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 formé dans le produit de décomposition par un moyen tel que la filtration sur gel ou la chromatographie d'échange d'ions en utilisant une colonne remplie de Sephadex, de Biogel, etc., aux fins de l'invention.

De manière plus détaillée, chacune des matières peut être préparée par exemple par le procédé suivant :

(a) Oligosaccharide accélérant la croissance des plantes obtenu par décomposition du polysaccharide produit par des microorganismes appartenant au genre Azotobacter :

Après avoir soumis Azotobacter vinelandii IAM 1078 à une culture agitée dans un milieu de culture liquide contenant 0,025 % de KH_2PO_4 , 0,0005 % de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0125 % de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0005 % de $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,025 % de NaCl , 0,0005 % de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, et 2,0 % de saccharose pendant 5 jours à 30°C, on soumet le liquide de culture obtenu à une séparation centrifuge sous 10 000 G pendant 30 minutes pour éliminer les cellules, et après avoir concentré le liquide surnageant, on ajoute 3 parties en volume d'éthanol à 1 partie du liquide concentré pour précipiter le polysaccharide formé, et on sépare le précipité et on le sèche, ce qui donne un polysaccharide. Le polysaccharide ainsi obtenu est dissous dans de l'eau pour former une solution aqueuse à 0,1 % du polysaccharide, et après avoir ajouté de l'acide chlorhydrique à la solution aqueuse à la concentration finale de 0,1 N, on effectue l'hydrolyse du polysaccharide pendant 6 heures à 100°C. Puis, en neutralisant le mélange réactionnel par de l'hydroxyde de sodium, on peut obtenir le produit de décomposition désiré.

Le produit de décomposition ainsi obtenu peut être utilisé tel quel aux fins de l'invention, mais, si nécessaire, le produit de décomposition est désalinisé par filtration sur gel, etc., et en outre, l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 qui est le constituant principal du produit de décomposition peut être séparé et purifié pour l'utilisation dans l'invention. La structure chimique de l'oligosaccharide obtenu en décomposant un polysaccharide produit par Azotobacter vinelandii est indiquée par G. H. Cohen, etc., in Journal

of Bacteriology, 88, 329 (1964), etc. Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont l'acide galacturonique, le glucose, le rhamnose, etc.

(b) Oligosaccharide accélérant la
5 croissance des plantes, obtenu en décomposant un polysaccharide produit par des microorganismes appartenant au genre Agrobacterium :

Après avoir soumis Agrobacterium
tumefaciens IAM 1037 à une culture agitée dans
10 un milieu de culture liquide contenant 1,0 % de mannitol, 0,1 % de $MgCl_2$, 0,1 % d'acide glutamique, 0,1 % de K_2HPO_4 , 0,02 % de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,004 % de $CaCl_2$, et, comme agents nutritifs mineurs, 10 γ de biotine, 100 γ de thiamine, 2,5 mg de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$,
15 0,01 mg de H_3BO_3 , 0,01 mg de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01 mg de $CoCl_2 \cdot 2H_2O$ par litre du milieu de culture, pendant 5 jours à 25°C, on dilue le liquide de culture obtenu avec 1 litre d'eau par litre du liquide de culture, on soumet le liquide dilué à une
20 séparation centrifuge sous 10 000 G pendant 40 minutes pour éliminer les mycéliums, et, après avoir concentré au tiers le liquide surnageant formé, on ajoute de l'éthanol au liquide concentré dans une quantité égale à trois fois le volume
25 du liquide pour précipiter le polysaccharide formé. Puis, en séparant et en séchant le produit, on peut obtenir un polysaccharide dans une quantité de 1 à 2 grammes par litre du liquide de culture.

On dissout le polysaccharide ainsi obtenu
30 dans de l'eau pour former une solution aqueuse de celui-ci à une concentration de 1 %, on ajoute de l'acide chlorhydrique à la solution à une concentration finale de 0,1 N et on effectue l'hydrolyse du polysaccharide pendant 6 heures

à 100°C. Ensuite, en neutralisant le mélange réactionnel obtenu avec de l'hydroxyde de sodium, on peut préparer le produit de décomposition désiré.

Le produit de décomposition ainsi obtenu
5 peut être utilisé tel quel aux fins de l'invention, mais, si nécessaire, on peut séparer et purifier l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 du produit de décomposition par des moyens de désalinisation et de purification tels que
10 filtration sur gel, etc., pour l'utilisation dans l'invention. La structure chimique du polysaccharide produit par des microorganismes appartenant au genre Agrobacterium ou de son produit de décomposition partielle est indiqué par L.P.T.M.
15 Zevenhuizen dans Carbohydrate, Research, 26, 409 (1973). Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont le glucose, le galactose, l'acide pyruvique, l'acide uronique, etc.

(c) Oligosaccharide accélérant la
20 croissance des plantes obtenu en décomposant un polysaccharide produit par des microorganismes appartenant au genre Rhizobium :

Après avoir soumis Rhizobium meliloti
IAM 12611 à une culture agitée dans un milieu de
25 culture liquide contenant 1,0 % de mannitol, 0,1 % de $MgCl_2$, 0,1 % d'acide glutamique, 0,1 % de K_2HPO_4 , 0,02 % de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,004 % de $CaCl_2$, et comme agents nutritifs mineurs, 10 γ de biotine, 100 γ
de thiamine, 2,5 mg de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 0,01 mg de H_3BO_3 ,
30 0,01 mg de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01 mg de $CoCl_2 \cdot 7H_2O$, 0,01 mg de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, et 0,01 mg de $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ par litre du milieu de culture pendant 5 jours à 25°C, on dilue le liquide de culture ainsi obtenu avec 1 litre d'eau par litre du liquide de culture,

on soumet le liquide dilué à une séparation centrifuge sous 10 000 G pendant 40 minutes pour éliminer les mycéliums, et après avoir concentré au tiers le liquide surnageant formé, on ajoute
5 de l'éthanol au concentré dans une quantité égale à trois fois le volume du liquide pour précipiter le polysaccharide formé. En séparant et en séchant le précipité, on peut obtenir un polysaccharide dans la quantité de 0,4 à 0,8 gramme par litre
10 du liquide de culture.

Le polysaccharide ainsi obtenu est dissous dans l'eau pour former une solution aqueuse de celui-ci ayant une concentration de 0,1 %, on ajoute
15 de l'acide chlorhydrique à la solution à une concentration finale de 0,1 N, et on effectue l'hydrolyse du polysaccharide pendant 6 heures à 100°C. En neutralisant le mélange réactionnel obtenu avec de l'hydroxyde de sodium, on peut obtenir le produit de décomposition désiré.

20 Le produit de décomposition ainsi obtenu peut être utilisé tel quel aux fins de l'invention, mais si nécessaire, l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 est séparé du produit de décomposition et purifié en utilisant
25 un moyen de désalinisation et de purification tel que filtration sur gel, etc. pour l'utilisation dans l'invention.

La structure chimique du polysaccharide produit par des microorganismes appartenant au
30 genre Agrobacterium ou celle de son produit de décomposition partielle est indiquée par L.P.T.M. Zevenhuiten dans Journal of General Microbiology, 68, 239 (1971), etc.

Les saccharides constituant l'oligosaccharide sont le glucose, le galactose, l'acide pyruvique, l'acide glucuronique, etc.

(d) Oligosaccharide accélérant la
5 croissance des plantes, obtenu par décomposition d'un polysaccharide produit par des microorganismes appartenant au genre Enterobacter :

Après avoir soumis Enterobacter cloacae
10 FERM P-8960 (qui a été converti le 15/10/87 en FERM-BP 1529) à une culture agitée dans un milieu de culture liquide contenant 1 % de lactose, 0,5 % de peptone, 0,1 % de KH_2PO_4 , 0,05 % de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, et 0,0033 % de Rose Bengale pendant 3 jours à 30°C, on soumet le liquide de culture obtenu à une
15 séparation centrifuge pour éliminer les cellules, et après concentration au tiers du liquide surnageant, on ajoute de l'éthanol au liquide concentré dans une quantité égale à trois fois le volume du liquide pour précipiter le
20 polysaccharide formé. En séparant le précipité puis en le séchant, on obtient le polysaccharide dans une quantité de 0,6 à 1,2 gramme par litre du liquide de culture.

On dissout le polysaccharide ainsi obtenu
25 dans de l'eau pour former une solution aqueuse de celui-ci à une concentration de 0,5 %, et, après y avoir ajouté de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 0,1 N, on effectue l'hydrolyse du polysaccharide pendant 4 heures
30 à 100°C et on neutralise le mélange réactionnel avec de l'hydroxyde de sodium pour donner le produit de décomposition désiré.

Le produit de décomposition ainsi obtenu
35 peut être utilisé tel quel aux fins de la présente invention, mais, si nécessaire, l'oligosaccharide

ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 peut être séparé du produit de décomposition et purifié par des moyens de désalinisation et de purification tels que la filtration sur gel en vue de l'utilisation dans l'invention.

Les saccharides constituant le polysaccharide produit par Enterobacter cloacae sont le glucose, le galactose, le rhamnose, le fucose, l'acide mannuronique, etc.

Le polysaccharide produit par Enterobacter cloacae n'a pas par lui-même d'action d'accélération de la croissance des plantes comme il est montré dans l'exemple 3 ci-dessous, mais l'oligosaccharide obtenu en décomposant le polysaccharide présente une action d'accélération de la croissance des plantes plus prononcée.

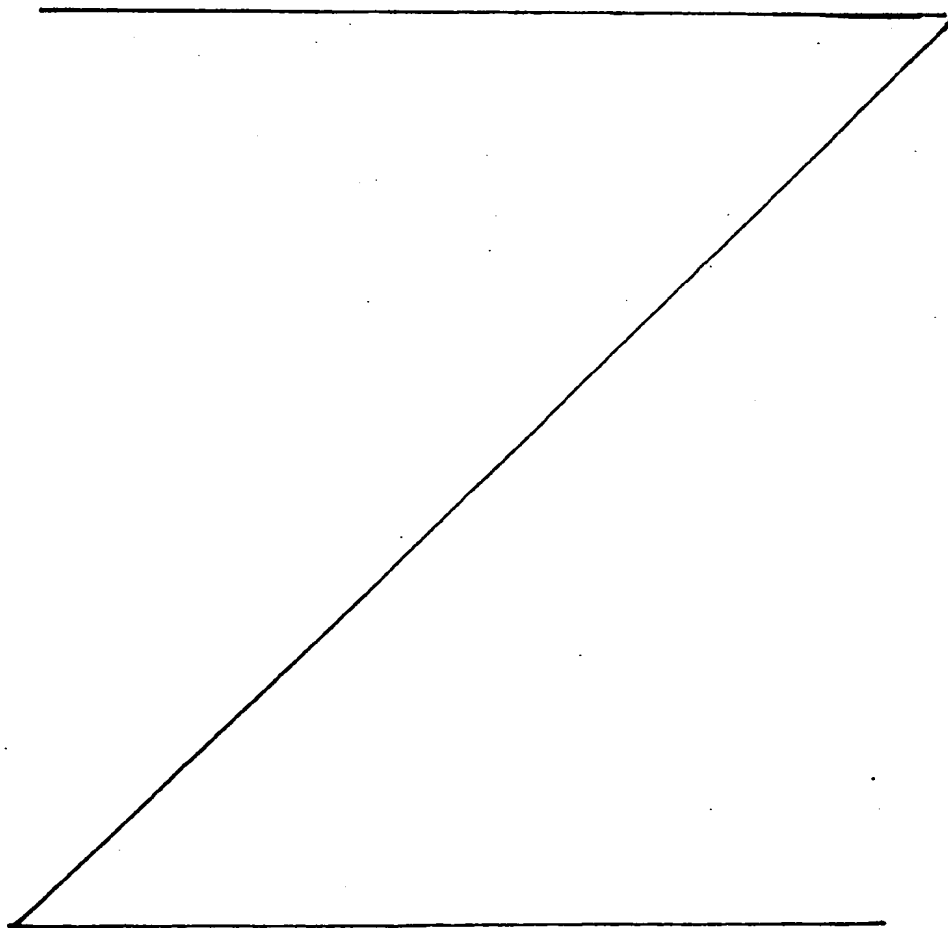
(e) Oligosaccharide accélérant la croissance des plantes obtenu en décomposant un polysaccharide produit par des microorganismes appartenant au genre Zoogloea :

Un polysaccharide produit par Zoogloea ramigera (produit du commerce, fabriqué par la Sigma Co.) est dissous dans de l'eau pour former une solution aqueuse à 0,1 % du polysaccharide, et après lui avoir ajouté de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 0,1 N, on effectue son hydrolyse pendant 4 heures à 100°C, et on neutralise le mélange réactionnel obtenu par de l'hydroxyde de sodium pour donner le produit de décomposition désiré.

Le produit de décomposition ainsi obtenu peut être utilisé tel quel aux fins de l'invention, mais, si nécessaire, l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 peut être séparé

du produit de décomposition et purifié par des moyens de désalinisation et de purification tels que filtration sur gel, etc. pour l'utilisation dans l'invention.

- 5 La structure chimique du polysaccharide produit par Zoogloea ramigera est indiquée par F. Ikeda, et coll. dans European Journal of Biochemistry, 123, 437 (1982) et les saccharides
- 10 le constituant sont le glucose, le galactose, l'acide pyruvique, etc.



(f) Oligosaccharide accélérant la croissance des plantes obtenu par décomposition d'un polysaccharide produit par des micro-organismes appartenant au genre Xanthomonas.

5 Le polysaccharide produit par les micro-organismes appartenant au genre Xanthomonas existe dans le commerce sous le nom de gomme Xanthane (fabriquée par la Sigma Co.).

10 La gomme Xanthane est dissoute dans de l'eau pour former une solution aqueuse à 1,0 % du polysaccharide, et après lui avoir ajouté de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 0,1 N, on effectue l'hydrolyse pendant 7 heures à 100°C, et on neutralise le mélange réactionnel obtenu avec
15 de l'hydroxyde de sodium pour donner le produit de décomposition désiré.

Le produit de décomposition ainsi obtenu peut être utilisé tel quel aux fins de l'invention, mais, si nécessaire, on peut séparer l'oligosaccharide
20 ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 du produit de décomposition et le purifier en utilisant des moyens de désalinisation et de purification tels que filtration sur gel, etc., pour l'utilisation dans l'invention.

25 Il existe de nombreux articles sur les structures chimiques de la gomme Xanthane, et les saccharides qui la composent sont le glucose, le mannose, l'acide glucuronique, l'acide pyruvique, l'acide acétique, etc.

30 (g) Oligosaccharide accélérant la croissance des plantes obtenu en décomposant un polysaccharide produit par des micro-organismes appartenant au genre Pseudomonas.

35 Le polysaccharide produit par Pseudomonas elodea existe sous le nom de gomme Gellane (fabriquée par la Société Sanei Kagaku Kogyo K.K.).

La gomme Gellane est dissoute dans de l'eau pour former une solution aqueuse à 0,1 % du polysaccharide, et après lui avoir ajouté de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 1,0 N, on effectue l'hydrolyse pendant 15 minutes à 120°C, et on neutralise le mélange réactionnel avec de l'hydroxyde de sodium, ce qui donne le produit de décomposition désiré.

Le produit de décomposition ainsi obtenu peut être utilisé tel quel aux fins de l'invention, mais, si nécessaire, on peut séparer l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 du produit de décomposition et le purifier par des moyens de désalinisation et de purification tels que la filtration sur gel pour l'utilisation dans l'invention.

La gomme Gellane elle-même se trouve dans un état gélatineux sous la forme d'une solution aqueuse à 0,1 %, et est utilisé comme substitut de l'agar-agar. Il est indiqué que lorsque le cal d'une plante ou une jeune plante est traitée par la gomme Gellane dans cet état, le développement des plantes peut être accéléré dans une certaine mesure, mais la demanderesse a trouvé que le produit de décomposition contenant l'oligosaccharide comme principal constituant, obtenu en décomposant le polysaccharide, a une activité d'accélération de la croissance des plantes cent fois supérieure à celle du polysaccharide non décomposé, la gomme Gellane (comme il est montré dans l'exemple 42 ci-dessous).

(h) Oligosaccharide accélérant la croissance des plantes obtenu en décomposant un polysaccharide produit par des micro-organismes appartenant au genre Aspergillus.

Le polysaccharide produit par Aspergillus niger existe dans le commerce sous le nom de Nigéran (fabriqué par la Sigma Co.).

5 Le Nigéran est dissous dans l'eau pour former une solution aqueuse à une concentration de 0,1 % et après lui avoir ajouté de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 0,1N, on effectue l'hydrolyse pendant 4 heures à 100°C, et on neutralise le mélange réactionnel avec de
10 l'hydroxyde de sodium pour obtenir le produit de décomposition désiré.

Le produit de décomposition ainsi obtenu peut être utilisé tel quel aux fins de l'invention, mais, si nécessaire, on peut séparer l'oligosaccharide
15 ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 du produit de décomposition et le purifier par des moyens de désalinisation et de purification tels que filtration sur gel, etc. pour l'utilisation dans l'invention.

La structure chimique du Nigéran est
20 indiquée par S.A. Barker, et Coll. dans Journal of Chemical Society, 2448 (1957). Les saccharides qui le constituent sont des polysaccharides formés par une liaison α -1,4 ou une liaison α -1,3 du glucose.

25 (i) Oligosaccharide accélérant la croissance des plantes obtenu en décomposant un polysaccharide produit par des micro-organismes appartenant au genre Saccharomyces.

Le polysaccharide produit par Saccharomyces cerevisiae existe dans le commerce sous le nom de
30 Mannan (fabriqué par la Sigma Co.).

Le Mannan est dissous dans de l'eau pour former une solution aqueuse à 1 % de celui-ci, et après lui avoir ajouté de l'acide chlorhydrique
35 à une concentration finale de 0,1N, on effectue

l'hydrolyse pendant 6 heures à 100°C, et on neutralise le mélange réactionnel formé avec de l'hydroxyde de sodium pour donner le produit de décomposition désiré.

5 Le produit de décomposition ainsi obtenu peut être utilisé tel quel aux fins de l'invention, mais, on peut, si nécessaire, séparer l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20 du produit de décomposition et le purifier
10 par des moyens de désalinisation et de purification tels que filtration sur gel, etc., pour l'utilisation dans l'invention.

 Les divers oligosaccharides ayant une action d'accélération de la croissance des plantes
15 décrits ci-dessus sont appliqués aux plantes de la manière suivante. L'oligosaccharide est appliqué aux plantes en en revêtant des semences, etc., dans un rapport de 5% à 100% par grain de la semence, en l'appliquant sur les surfaces des feuilles d'une
20 plante sous la forme d'une solution aqueuse à 20%/ml-200%/ml, en l'appliquant dans le sol sous la forme d'une solution aqueuse à 30%/ml-350%/ml dans un rapport de 0,5 kg à 5,0 kg par hectare, en le mélangeant avec un engrais liquide pour l'hydroculture
25 à une concentration de 2,5%/ml à 250%/ml, ou en l'appliquant sur un engrais solide tel qu'un engrais chimique solide ou en le mélangeant avec celui-ci dans un rapport de 0,1 % à 0,5 %. Ainsi, la croissance des racines, des tiges et des feuilles des plantes
30 est accélérée, améliorant ainsi le rendement des plantes. De même, les récoltes ainsi obtenues ont une saveur et un goût excellents, et leur fraîcheur peut être maintenue pendant un temps relativement long. En outre, comme plantes convenant pour
35 l'invention, on citera les plantes vertes telles

- que le Kaiware Daikon, le persil de pierre, le chou de Chine, la laitue, l'épinard, le radis, la pomme de terre, le taro, etc., des céréales telles que le riz, le blé, le maïs, etc., et d'autres produits agricoles tels que des pétales, des fruits, etc.

L'invention sera décrite à présent d'une manière détaillée par les exemples suivants.

Exemple 1

- On prépare un oligosaccharide (produit non chauffé) en ajoutant de la lyase de l'acide alginique (Abalone Acetone Powder) à de l'acide alginique dans un rapport de 4000 U/g d'acide alginique et en laissant réagir pendant 48 heures à un pH de 7,0 et à 40°C. On traite ensuite thermiquement l'oligosaccharide pendant 2 heures à 120°C. Après le traitement thermique, on neutralise le mélange réactionnel à pH 7,0. Puis on détermine l'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide d'acide alginique avant et après chauffage en utilisant le Kaiware Daikon.

- On place 36 grains de semence de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique contenu dans un récipient de verre, et après avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on les cultive pendant 6 jours à 23°C (la culture est effectuée dans l'obscurité pendant les 4 premiers jours, puis sous le rayonnement d'une lumière de 5000 lux pendant 2 jours). Chaque oligosaccharide de l'acide alginique est ajouté dans les rapports indiqués de 2,5 % à 0,000025 % à la quantité de l'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 1 ci-après.

En outre les valeurs numériques du tableau 1 sont les valeurs moyennes de la longueur tige-feuille (cm) et de la longueur des racines (cm) de la plante cultivée dans chaque cas, celles de la longueur des tiges-feuilles et de la longueur des racines des plantes cultivées sans l'oligosaccharide, de l'acide alginique, etc. étant de 100 (n=36).

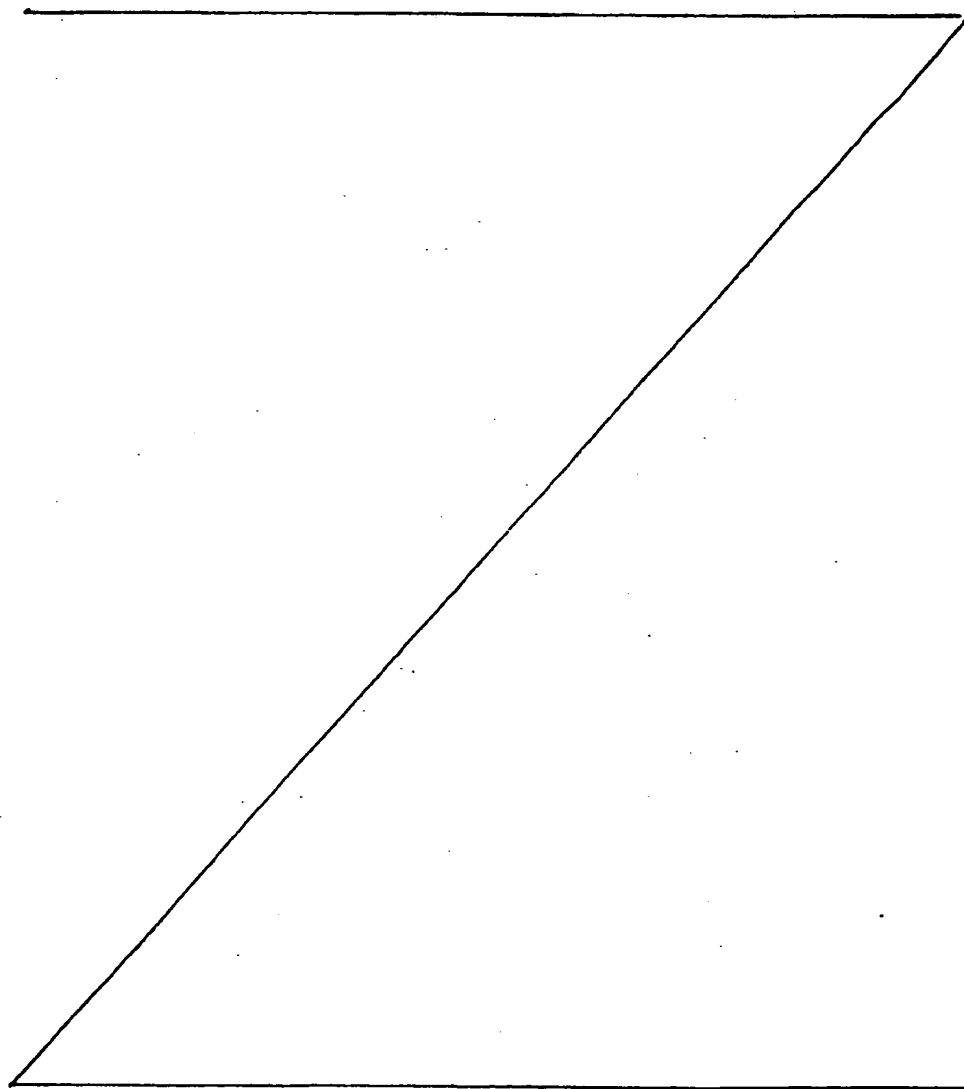


Tableau 1

Quantité d'oligo- saccharide de l'acide alginique ajouté (%)	Produit chauffé à 120°C et à pH 2,0		Produit non chauffé	
	Longueur tige- feuille (%)	Longueur de la racine (%)	Longueur tige- feuille (%)	Longueur de la racine (%)
2,5	80	91	90	84
0,25	135	325	140	297
0,025	138	520	134	517
0,0025	115	274	108	148
0,00025	108	143	101	120
0,000025	101	98	98	102
Alginate de Sodium				
0,25	-	-	100	99

(-) : Non étudié.

Comme le montre le tableau ci-dessus, l'oligosaccharide de l'acide alginique accélère la croissance à la fois de la tige-feuille et de la racine de la plante à chaque concentration par comparaison avec le groupe témoin sans addition de l'oligosaccharide de l'acide alginique, et lorsque l'oligosaccharide de l'acide alginique est chauffé pendant 2 heures à 120°C et à pH 3,0, l'effet est augmenté dans chaque cas.

10 Exemple 2

On place deux grains de semence de mélinet (*Cryptotaenia japonica*) sur un mat de résine synthétique de 4 cm x 4 cm, et après avoir plongé le mat dans un engrais liquide contenant 0,15 % d'Otsuka House Fertilizer n° 1 et 0,1 % d'Otsuka House Fertilizer n° 2, on cultive les semences pendant 10 jours à 23°C sous 5000 lux pour effectuer la germination des semences et leur culture assidue, on fait passer les jeunes plants dans un appareil d'hydroculture et on les cultive pendant 2,5 mois sous 8000 lux à 23-24°C.

Les groupes d'expériences utilisés ont été les suivants :

Groupe témoin :

25 Après culture assidue avec l'engrais liquide ne contenant pas d'oligosaccharide de l'acide alginique, les jeunes plants ont été cultivés avec l'engrais liquide ne contenant pas d'oligosaccharide de l'acide alginique.

30 Groupe additionné d'oligosaccharide de l'acide alginique :

Après culture assidue avec l'engrais liquide avec l'addition de 0,025 % d'oligosaccharide de l'acide alginique, les jeunes plants sont cultivés avec l'engrais liquide contenant 0,025 % d'oligosaccharide de l'acide alginique.

En outre, l'oligosaccharide de l'acide alginique utilisé dans cet exemple a été préparé en ajoutant de la lyase de l'acide alginique à une solution aqueuse d'alginate de sodium (pH 7,0) dans un rapport de 4000 U/g d'acide alginique, en effectuant la réaction pendant 48 heures à 40°C, en ajustant le pH du mélange réactionnel à 3,0, en traitant par la chaleur le mélange réactionnel pendant 2 heures à 120°C, et après refroidissement, en neutralisant le produit à pH 7,0.

Les résultats des essais sont donnés dans le tableau 2.

<u>Tableau 2</u>		
<u>Groupe</u>	<u>Longueur moyenne</u>	<u>Longueur moyenne</u>
<u>d'expérience</u>	<u>de la tige</u>	<u>de la racine</u>
	<u>(cm)</u>	<u>(cm)</u>
Groupe addition- né d'oligosac- charide de l'acide algi- nique	27,3	2,8
Groupe témoin	20,8	1,8
		(n=20)

Comme le montre le tableau ci-dessus, le rendement du mélinet est augmenté par l'addition d'oligosaccharide de l'acide alginique.

Exemple 3

Des semences de Kaiware Daikon revêtues d'oligosaccharide de l'acide alginique ont été préparées en pulvérisant une partie en poids d'une solution aqueuse contenant 0,25 % d'oligosaccharide de l'acide alginique et 0,75 % d'alginate de sodium sur une partie en poids de semences et en les séchant dans un courant d'air à 40-50°C.

On a placé ensuite 50 grains des semences revêtues de l'oligosaccharide de l'acide alginique sur un mat de résine synthétique dans un récipient de verre, et, après leur avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous irradiation par une lumière de 5000 lux.

Pour le groupe témoin, on a placé des semences de Kaiware Daikon non revêtues sur un mat de résine synthétique et on les a cultivées dans les mêmes conditions de culture que ci-dessus.

Les résultats sont donnés dans le tableau 3.

<u>Tableau 3</u>			
15	<u>Groupe d'expérience</u>	<u>Longueur tige- feuille</u>	<u>Longueur de la racine</u>
		(cm)	(cm)
	Graine revêtue	7,80 (118)	8,56 (164)
	Groupe témoin	6,63 (100)	5,22 (100)
20			

Le tableau 3 indique que lorsqu'on a utilisé les semences revêtues avec l'oligosaccharide de l'acide alginique dans une quantité de 2,5 mg par gramme des semences, on a observé une augmentation de 118 % de la longueur tige-feuille et de 164 % de la longueur des racines.

Exemple 4

Après avoir placé 40 grains des semences de chou de Chine (Brassica Rapa var. pervidis)(sélection : choux Misugi) sur 9 kg de terre noire dans un pot de 17 cm x 60 cm x 15 cm, les semences ont été cultivées dans les conditions naturelles du 15 Juin au 4 Juillet. Les groupes d'expériences utilisés ont été les suivants.

Groupe témoin :

On n'ajoute pas d'oligosaccharide de l'acide alginique.

Groupe additionné :

5 Après avoir ajouté 3,6 litres de solution aqueuse de 22 g d'oligosaccharide de l'acide alginique à 9 kg de terre noire (0,25 % d'oligosaccharide) de l'acide alginique par rapport à la quantité de terre noire), on a cultivé les semences dans cette terre.

10 L'oligosaccharide d'acide alginique utilisé dans cet exemple avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 2. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 4.

Tableau 4

15	<u>Groupe d'expérience</u>	<u>Poids moyen par pied de chou</u>
	Groupe témoin	4,9 ± 1,4 (100)
	Groupe additionné	5,9 ± 1,6 (120)

20 La valeur numérique entre parenthèses est la valeur par rapport à la valeur moyenne du groupe témoin posée comme égal à 100.

Comme le montre le tableau ci-dessus, l'augmentation de rendement de 20 % par addition d'oligosaccharide d'acide alginique à la terre a
25 été confirmée.

Exemple 5

Des semences de maïs (maïs indien) ont été semées dans le sol à raison de 36 grains pour 30 33 m² et cultivées pendant 3,5 mois dans les conditions naturelles. Les groupes d'expériences utilisés ont été les suivants.

Groupe témoin :

On n'a pas ajouté d'oligosaccharide de
35 l'acide alginique.

Groupe additionné :

Lorsque la longueur tige-feuille a atteint 8 à 12 cm après la germination, on a appliqué 6 g d'oligosaccharide de l'acide alginique à la circonférence de chaque racine sous la forme d'une solution aqueuse à 0,05 % de celui-ci. En outre, 1,5 mois après, on a apporté en supplément 6 g d'oligosaccharide d'acide alginique de la même manière que ci-dessus.

L'oligosaccharide de l'acide alginique utilisé a été préparé de la même manière que dans l'exemple 2. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 5.

Tableau 5

Groupe d'expérience	Rendement (kg)
Groupe additionné d'oligo-saccharide de l'acide alginique	23,8
Groupe témoin	18,9

Comme le montre le tableau 5, on a observé une augmentation de rendement de 26 % pour le maïs par application de l'oligosaccharide de l'acide alginique.

Exemple 6

Après avoir cultivé 100 grains de semences de concombre (sélection Kifujin) dans un plateau pour semis-culture assidue (seedling-nursing) pendant une semaine à 20-23°C, on fait passer les jeunes plants dans un pot (diamètre 90 mm, hauteur 76 mm) et on les cultive pendant deux semaines. Les jeunes plants ainsi obtenus sont transplantés dans la terre avec un intervalle de 80 cm et cultivés pendant 3 mois dans les conditions naturelles. Les groupes d'expériences ont été utilisés de la manière suivante.

Groupe témoin :

On n'a pas ajouté d'oligosaccharide de l'acide alginique.

Groupe additionné :

5 Trois jours après le transfert des jeunes plants dans un pot, on leur a appliqué l'oligosaccharide de l'acide alginique sous la forme d'une solution aqueuse de celui-ci à 25 mg par pot dans 50 ml d'eau. De même, 3 semaines après la
10 transplantation des jeunes plants dans le sol, on a appliqué en outre une solution aqueuse de 50 ml d'oligosaccharide de l'acide alginique dissous dans 500 ml d'eau.

15 L'oligosaccharide de l'acide alginique utilisé avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 2.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 6.

Tableau 6

20	<u>Groupe d'expérience</u>	<u>Rendement (kg/pied)</u>
	Groupe additionné d'oligosaccharide de l'acide alginique	5,7 (119)
	Groupe témoin	4,8 (100)

25 Comme le montre le tableau ci-dessus, le rendement en concombre a été porté à 119 % par application de l'oligosaccharide de l'acide alginique.

Exemple 7

30 Après avoir transplanté 56 pieds de pomme de terre (sélection : Danshaku) dans un champ expérimental de 10,8 m² par groupe et les avoir cultivés pendant 2 mois, on a appliqué deux fois une solution aqueuse de l'oligosaccharide de l'acide alginique sur les surfaces de leurs feuilles, à
35 la phase de bourgeonnement, au cours de la culture.

Un engrais et de l'eau ont été appliqués de la manière ordinaire. Les groupes d'essais étaient les suivants :

5	Groupe d'essai	Produit chimique appliqué	Concentration du produit chimique
	1	Oligosaccharide de l'acide alginique	200γ/ml
	2	-id-	20γ/ml
	3	-id-	2,0γ/ml
10	4	Aucun (eau seulement)	0

L'oligosaccharide de l'acide alginique utilisé pour l'essai avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 2. De même, la transplantation des pieds de pomme de terre avait été effectuée le 27 Février, l'application de la solution aqueuse de l'oligosaccharide d'acide alginique sur les surfaces de leurs feuilles le 28 Avril et le 8 Mai, et la culture était terminée le 29 Mai. Les résultats d'essais obtenus sont donnés dans le tableau 7.

Tableau 7

25	Groupe d'essai	Rendement pour la pomme de terre (g/pied)	Teneur en amidon (%)
	1	530,6 (114)	10,03 (121)
	2	514,2 (111)	9,87 (116)
	3	473,6 (102)	9,50 (111)
	4	464,3 (100)	8,54 (100)

Comme le montre le tableau 7 ci-dessus, l'augmentation du rendement et la teneur en amidon ont été confirmées par l'application de l'oligosaccharide de l'acide alginique sur les surfaces des feuilles à des concentrations de 200γ/ml à 2,0γ/ml.

Exemple 8

Après transplantation de 200 pieds d'oignons dans une parcelle d'essais de 9 m² par groupe et culture pendant 4 mois, on a appliqué trois fois à la parcelle l'oligosaccharide de l'acide alginique, une fois par mois, sous la forme d'une solution aqueuse de celui-ci dans un rapport de 5,0 kg, 1 kg ou 0,5 kg par hectare au cours de la culture. Un engrais et de l'eau ont été appliqués de la manière ordinaire. Les groupes d'essais utilisés ont été les suivants.

	Groupe d'essai	Produit chimique appliqué	Concentration et quantité appliquées	
15	1	Oligosaccharide de l'acide alginique	3357/ml	5,0 kg/ha
	2	-id-	677/ml	1,0 kg/ha
	3	-id-	37/ml	0,5 kg/ha
	4	Aucun (eau seulement)		

L'oligosaccharide de l'acide alginique utilisé avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 2.

Les résultats d'essais obtenus sont donnés dans le tableau 8.

Tableau 8

	Groupe d'essai	Rendement pour l'oignon (g/pied)
	1	271,6 (118 %)
	2	263,4 (114 %)
30	3	242,6 (105 %)
	4	230,6 (100 %)

Comme le montre le tableau 8 ci-dessus, une augmentation du rendement de 105 % à 118 % a été observée par l'application d'une solution aqueuse

de l'oligosaccharide de l'acide alginique dans le sol dans divers rapports de 0,5 kg/ha à 1,5 kg/ha.

Exemple 9

Après avoir semé 250 grains de semences de soja vert dans une parcelle d'essai de 10,8 m² par groupe, les semences ont été cultivées de la manière ordinaire. Dans ce cas, avant l'ensemencement, une solution aqueuse de l'oligosaccharide de l'acide alginique dissous dans une solution aqueuse d'alginate de sodium à 0,75 % a été pulvérisée sur les semences dans un courant d'air à 40-50°C pour revêtir les semences d'oligosaccharide clinique de l'acide alginique dans un rapport de 5%, 50% ou 100% par grain de semence, et les semences ainsi revêtues ont été utilisées pour l'essai. Les groupes d'essais ont été les suivants.

Groupe d'essai	Quantité d'oligosaccharide de l'acide alginique appliquée par grain de semence
1	100
2	50
3	5
4*	0

(*) : Témoin

Les résultats d'essais obtenus sont donnés dans le tableau 9.

<u>Tableau 9</u>	
Groupe d'essai	Rendement du soja (g/pied)
1	210 (111 %)
2	218 (115 %)
3	196 (108 %)
4	189 (100 %)

Comme le montre le tableau 9, une augmentation du rendement de 4 % à 15 % a été observée en revêtant les semences de l'oligosaccharide de

L'acide alginique à raison de 5γ à 100γ par grain de semence.

L'oligosaccharide de l'acide alginique utilisé dans l'essai avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 2.

Exemple 10

Après avoir semé 2 grains de semences de laitue sur un mat de résine synthétique de 4 cm x 4 cm et avoir fait passer le mat dans un appareil d'hydroculture, on a effectué l'hydroculture pendant 40 jours sous une irradiation de lumière de 5000 lux.

Pour déterminer l'action de l'oligosaccharide de l'acide alginique, on a utilisé des engrais liquides contenant l'oligosaccharide de l'acide alginique à raison de 25γ/ml à 250γ/ml. Les groupes d'essais ont été les suivants.

Groupe d'essai	Concentration (γ/ml de l'oligosaccharide de l'acide alginique)
1	250
2	100
3	50
4	25
5*	0
(*) : Témoin	

L'oligosaccharide de l'acide alginique utilisé dans l'essai avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 2. Les résultats d'essais obtenus sont donnés dans le tableau 10.

<u>Tableau 10</u>	
Groupe d'essai	Poids (g/pied) de tige-feuille
1	138,0 (140 %)
2	123,3 (110 %)
3	110,6 (112 %)

Tableau 10 (Suite)

Groupe d'essai	Poids (g/pied) de tige-feuille
4	98,6 (100 %)
5	98,6

5

Comme il ressort clairement du tableau 10, une élévation du rendement de 110 % à 140 % pour la laitue a été observée en effectuant l'hydroculture avec addition de l'oligosaccharide de l'acide alginique à l'engrais liquide dans le rapport indiqué de 257/ml à 2507/ml.

10

Exemple 11

Dans un pot de 17 cm x 60 cm x 15 cm, on a placé 8 kg de terre noire, après lui avoir ajouté 4 g d'un engrais chimique ou un mélange de l'engrais chimique additionné d'oligosaccharide de l'acide alginique, 40 grains de semence d'épinard ont été semés dans la terre et cultivés pendant 60 jours dans des conditions artificielles de 35 000 lux et 25°C.

20

L'engrais additionné d'oligosaccharide de l'acide alginique avait été préparé en pulvérisant une solution aqueuse de l'oligosaccharide de l'acide alginique sur un engrais chimique puis en séchant. Les groupes d'essais étaient les suivants.

25

Groupe d'essai	Quantité d'oligosaccharide de l'acide alginique ajoutée dans l'engrais chimique (%)
1	0,5
2	0,25
3	0,1
4*	0

30

(*) : Témoin

Le saccharide de l'acide alginique utilisé dans l'essai avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 2.

35

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 11.

Tableau 11

<u>Groupe d'essai</u>		<u>Poids moyen (g) d'épinard par pied</u>
5	1	9,74 (145 %)
	2	8,73 (130 %)
	3	7,52 (112 %)
	4	6,72 (100 %)

10 Comme il ressort clairement du tableau 11, une élévation du rendement de 112 % à 145 % a été observée par l'application des engrais chimiques contenant de 0,1 % à 0,5 % d'oligosaccharide d'acide alginique.

15 Exemple 12

Après avoir dissous 25 g de xylane dans 1 litre d'eau et avoir ajusté le pH de la solution à 5,0, on lui a ajouté une préparation de cellulase contenant une activité de xylase (Meicelase, marque commerciale, fabriquée par la Société Meiji Seika Kaisha, Ltd.) à raison de 10 mg par gramme de xylanase, et on a effectué la réaction pendant 48 heures à 40°C. Lorsque la réaction était terminée, on a traité par la chaleur le mélange réactionnel pendant 15 minutes à 100°C pour inactiver l'enzyme et on l'a fait passer à travers une colonne remplie de Biogel P-2 pour éliminer la partie xylose, et en même temps, on a obtenu 15 g d'une poudre d'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10. La composition du saccharide était celle indiquée dans le tableau 12, dans lequel Xyl représente le xylose, Xyl₂, le xylobiose, Xyl₃, le xylotriose, etc...

Tableau 12

<u>Saccharides</u>	Xyl ₂	Xyl ₃	Xyl ₄	Xyl ₅	Xyl ₆	Xyl ₇	Xyl ₇₋₁₀
<u>Teneur (%)</u>	7,49,7	15,1	8,1	14,1	12,1	33,5	

5 L'action d'accélération de la croissance des plantes du xylo-oligosaccharide a été déterminée pour le Kaiware Daikon.

On a placé 36 grains de semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité, à 23°C, puis pendant 2 jours sous irradiation d'une lumière de 5000 lux. Dans ce cas, le xylo-oligosaccharide a été ajouté dans les rapports indiqués de 2,5 % à 0,000025 % par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 13.

Tableau 13

20	<u>Quantité de xylo-oligo-saccharide ajoutée (%)</u>	<u>Longueur tige-feuille (%)</u>	<u>Longueur des racines (%)</u>
	2,5	92	94
	0,25	110	240
	0,025	125	285
25	0,0025	104	164
	0,00025	102	109
	0,000025	96	102

(n=36)

30 Les valeurs numériques du tableau 13 sont la longueur tige-feuille (cm) et la longueur des racines (cm) de Kaiware Daikon dans chacun des cas, celle de Kaiware Daikon cultivés sans addition de xylo-oligosaccharide étant posée comme égale à 100.

Exemple 13

On place 2 grains des semences de mélinet (mélinet à tige blanche) sur un mat de résine synthétique de 4 cm x 4 cm, et après avoir plongé le mat dans un engrais liquide contenant 0,15 % d'engrais Otsuka House n° 1 et 0,1 % d'engrais Otsuka House n° 2, on cultive les semences pendant 10 jours sous irradiation d'une lumière de 5000 lux à 23°C, pour effectuer la germination et la culture assidue. On transplante ensuite les jeunes plants dans un appareil d'hydroculture et on les cultive pendant 2,5 mois sous 8000 lux à 23-24°C. Les groupes d'expériences sont les suivants.

Groupe témoin :

Après culture assidue des semences avec l'engrais liquide ne contenant pas de xylo-oligosaccharide, on cultive les jeunes plants avec l'engrais liquide ne contenant pas de xylo-oligosaccharide.

Groupe additionné de xylo-oligosaccharide :

Après culture assidue des jeunes plants avec l'engrais liquide contenant 0,025 % de xylo-oligosaccharide, on cultive les jeunes plants avec l'engrais liquide contenant 0,025 % de xylo-oligosaccharide.

Le xylo-oligosaccharide utilisé dans l'essai a été préparé de la même manière que dans l'exemple 12.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 14.

Tableau 14

<u>Groupe d'expérience</u>	<u>Longueur moyenne de la tige (cm)</u>	<u>Longueur moyenne des racines (cm)</u>
Groupe additionné de xylo-oligosaccharide	24,2	2,3
Groupe témoin	20,8	1,8
		(n=20)

Comme il ressort clairement du tableau 14, une augmentation du rendement du mélinet a été observée par addition du xylo-oligosaccharide.

Exemple 14

5 Des semences de Kaiware Daikon sont revêtues de xylo-oligosaccharide dans le rapport indiqué de 2,5% à 100% par grain de la semence en pulvérisant une partie en poids des solutions aqueuses contenant
10 d'alginate de sodium sur une partie en poids des semences en séchant les semences dans un courant d'air à 40-50°C.

Après avoir placé 50 grains des semences revêtues de xylo-oligosaccharide ainsi obtenues
15 sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre et leur avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on cultive les semences pendant 4 jours dans l'obscurité, à 23°C puis pendant 2 jours sous l'irradiation d'une lumière de 5000 lux.

20 Pour le groupe témoin, on cultive des semences de Kaiware Daikon non revêtues de xylo-oligosaccharide dans les mêmes conditions que ci-dessus.

Les résultats obtenus sont donnés dans
25 le tableau 15.

Tableau 15

	Quantité de xylo-oligo- saccharide appliquée par grain de semence	Longueur moyenne des tiges	Longueur moyenne des racines
	(%)	(cm)	(cm)
30	100	7,74 (117)	8,54 (164)
	50	7,76 (117)	8,48 (163)
	25	7,15 (108)	7,54 (145)
	5	6,94 (105)	6,22 (119)
	2,5	6,70 (101)	5,41 (104)
35	Témoin	6,64 (100)	5,21 (100)

Les valeurs numériques entre parenthèses sont les valeurs dans chaque cas, les valeurs moyennées du témoin étant posées comme égales à 100.

- Comme il ressort clairement du tableau 15,
- 5 l'utilisation des semences revêtues de xylo-oligosaccharide à raison de 5% à 100% par grain de la semence a montré une action d'accélération de la croissance de 105 % à 117 % pour la longueur tige-feuille et 119 % à 164 % pour la longueur des
- 10 racines par comparaison avec le groupe témoin utilisant les semences non revêtues par le xylo-oligosaccharide.

Exemple 15

- Après avoir semé 40 grains des semences
- 15 de chou de Chine (*Brassica Rapa* var. *pervidis*) (chou Misugi) dans 9 kg de terre noire dans un pôt de 17 cm x 60 cm x 15 cm, on a cultivé les semences pendant 30 jours dans des conditions naturelles. Les groupes d'expériences étaient les suivants.

- 20 Groupe témoin :

On n'a pas ajouté de xylo-oligosaccharide.

Groupe additionné :

- Après addition d'une solution aqueuse contenant 22 g ou 2,2 g de xylo-oligosaccharide
- 25 dans 3,6 litres d'eau à la terre noire, et lui avoir ajouté 0,25 % ou 0,025 % de xylo-oligosaccharide, on a cultivé les graines dans la terre.

- Le xylo-oligosaccharide utilisé dans l'essai a été préparé de la même manière que dans
- 30 l'exemple 12.

Les résultats sont donnés dans le tableau 16.

Tableau 16

Groupe d'expérience	Poids moyen par pied de chou de Chine
Groupe témoin	4,9 \pm 1,4 (100)
5 Groupe additionné de 0,25 %	5,6 \pm 1,2 (114)
Groupe additionné de 0,025 %	5,1 \pm 1,6 (104)

10 Les valeurs numériques entre parenthèses sont les valeurs dans chaque cas, la valeur moyenne du groupe témoin étant posée comme égale à 100.

Comme il ressort clairement du tableau 16, une augmentation de rendement de 104 % à 115 % a été observée par addition de 0,25 % à 0,025 % de
15 xylo-oligosaccharide à la terre.

Exemple 16

On cultive un cal d'épinard dans un milieu de culture Murashige-Skoog à 150 tours/minute pendant 2 semaines à 25°C, ce qui donne 370 g de cellules
20 de culture. Les cellules de culture sont dispersées dans 2 litres d'eau distillée, traitées par un broyeur ultrasonique (Polytron) pour broyer les cellules de culture, et on leur ajoute un litre d'éthanol pour précipiter le polysaccharide des parois
25 cellulaires grâce à quoi on obtient 15 g de polysaccharide de parois cellulaires.

Après avoir dissous ce polysaccharide dans 300 ml d'eau distillée et avoir ajusté le pH de la solution à 5,1, on ajoute à la solution
30 300 mg de Pectolyase Y-23, 750 mg de Doriselase, et 600 mg de Cellulase Onozuka R-10, puis on effectue l'hydrolyse du polysaccharide pendant 4 heures à 25°C. Après avoir chauffé le mélange réactionnel à 100°C pendant 10 minutes pour inactiver les
35 enzymes, on fait passer le mélange réactionnel

à travers une colonne (5 cm x-100 cm) remplie de Biogel P-2, ce qui donne 3,5 g d'une fraction contenant des oligosaccharides du biose au décanose.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide du polysaccharide de parois cellulaires de la plante ainsi obtenu est déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains des semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, puis après avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide du polysaccharide de parois cellulaires de la plante a été ajouté au système dans les rapports indiqués de 2,5 % à 0,000025 % par rapport à la quantité d'eau du robinet.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 17.

20

Tableau 17

	Quantité ajoutée d'oligo- saccharide obtenu en décomposant un polysac- charide de paroi cel- lulaire de plante (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
25	2,5	98	86
	0,25	111	196
	0,025	135	196
	0,0025	121	289
	0,00025	108	141
30	0,000025	101	98

Les valeurs numériques du tableau 17 sont la longueur tige-feuille (cm) et la longueur des racines (cm) dans chaque cas, celles des Kaiware Daikon cultivés sans oligosaccharide obtenu par

décomposition du polysaccharide des parois cellulaires de la plante étant posées comme égales à 100.

Exemple 17

On revêt une partie en poids de semences
5 de Kaiware Daikon en les pulvérisant avec une partie
en poids de solutions aqueuses contenant 0,7 à 0,025 %
d'oligosaccharide obtenu en décomposant le
polysaccharide de parois cellulaires de la plante
et 0,75 % d'alginate de sodium et on les sèche dans
10 un courant d'air à 40-50°C.

On place ensuite 50 grains des semences
revêtus de l'oligosaccharide obtenu en décomposant
le polysaccharide de parois cellulaires de la plante
obtenu comme il a été décrit ci-dessus sur un mat
15 de résine synthétique disposé dans un récipient
de verre, et après leur avoir ajouté 70 ml d'eau
du robinet, on cultive les semences pendant 4 jours
dans l'obscurité à 23°C et pendant 2 jours sous
une irradiation de 5000 lux.

20 Pour le groupe témoin, des semences non
revêtues ont été également cultivées dans les mêmes
conditions que ci-dessus.

Les résultats obtenus sont donnés dans
le tableau 18.

25 L'oligosaccharide obtenu en décomposant
le polysaccharide de parois cellulaires a été préparé
de la même manière que dans l'exemple 16.

30

35

Tableau 18

5	Quantité d'oligosaccharide obtenu en décomposant un polysaccharide de paroi cellulaire de plante, ap- pliquée par grain de semence (γ)	Longueur moyenne tige-feuille (cm)	Longueur moyenne des racines (cm)
10	100	7,65 (115)	8,64 (166)
	50	7,74 (117)	8,58 (165)
	25	7,26 (109)	7,59 (146)
	5	6,89 (104)	6,43 (123)
	2,5	6,70 (101)	5,35 (103)
	0	6,64 (100)	5,21 (100)

Les valeurs numériques entre parenthèses sont les valeurs dans chaque cas, les valeurs moyennes du groupe témoin étant posées comme égales à 100.

Comme il ressort clairement du tableau ci-dessus, dans le cas de l'utilisation des semences revêtues de l'oligosaccharide obtenu en décomposant le polysaccharide de parois cellulaires de plantes à raison de 5 γ à 100 γ, on a observé une action d'accélération de la croissance de 104 % à 117 % pour la longueur tige-feuille et de 123 % à 166 % pour la longueur des racines par comparaison avec les semences du groupe témoin non revêtues de l'oligosaccharide.

Exemple 18

Après avoir ajouté 20 g d'acide polygalacturonique dans un litre d'eau et avoir ajusté le pH de la solution à 5,0, on ajoute 200 mg de pectinase à la solution et on effectue la réaction pendant 7 heures à 50°C. Lorsque la réaction est terminée, on chauffe le mélange réactionnel à 100°C pendant 15 minutes pour inactiver l'enzyme et, après lui avoir ajouté 5 g de carbone actif, on traite le mélange pendant 30 minutes. On filtre

le mélange réactionnel et on concentre le filtrat obtenu, ce qui donne 123 ml d'une solution contenant 10 % P/V d'oligosaccharide de l'acide polygalacturonique.

5 L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide de l'acide polygalacturonique ainsi obtenu a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 g des semences de Kaiware Daikon dans un mat de résine
10 synthétique disposé dans un récipient de verre, et après lui avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas,
15 l'oligosaccharide de l'acide polygalacturonique a été ajouté dans le rapport indiqué de 2,5 % à 0,000025 % par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 19.

20

Tableau 19

Quantité d'oligosaccharide d'acide polygalacturonique ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
2,5	96	98
0,25	111	148
0,025	106	159
0,0025	104	108
0,00025	102	104
0,000025	99	98

(n=36)

30 Les valeurs numériques du tableau 19 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur des racines dans chaque cas, celles des Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide
35 de l'acide polygalacturonique étant posées comme égales à 100.

Exemple 19

Après avoir dissous 25 g de pectine dans un litre d'eau et ajusté le pH de la solution à 5,0, on ajoute 500 mg de pectinase à la solution et on effectue la réaction pendant 23 heures à 50°C. Lorsque la réaction est terminée, on chauffe le mélange réactionnel à 100°C pendant 15 minutes pour inactiver l'enzyme, puis on traite par addition de 5 g de carbone actif pendant 30 minutes. On filtre le mélange et on concentre le filtrat obtenu, ce qui donne 165 ml d'une solution contenant 10 % P/V de l'oligosaccharide de la pectine.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide de la pectine ainsi obtenu a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains des semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, après leur avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide de pectine leur a été ajouté dans les rapports indiqués de 2,5 % à 0,000025 % par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 20.

Tableau 20

	Quantité d'oligosaccharide de pectine ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
	2,5	86	91
30	0,25	116	149
	0,025	107	121
	0,0025	101	108
	0,00025	103	101
	0,000025	94	98
35			(n=36)

Les valeurs numériques du tableau 20 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine dans chaque cas, celles des Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide de la pectine étant posées comme égales à 100 %.

Exemple 20

Après avoir semé 40 grains de semences de chou de Chine (chou Misugi) dans 9 kg de terre noire dans un pot de 17 cm x 60 cm x 15 cm, on a cultivé les semences dans les conditions naturelles du 15 Juin au 4 Juillet. Les groupes d'expériences utilisées ont été les suivants.

Groupe témoin :

On n'a pas ajouté d'oligosaccharide de l'acide polygalacturonique.

Groupe additionné :

On a ajouté à la terre noire une solution aqueuse de 22 g d'oligosaccharide de l'acide polygalacturonique dissous dans 3,6 litres d'eau pour former une terre contenant 0,25 % d'acide polygalacturonique par rapport à la quantité de terre noire, et on effectue la culture en utilisant cette terre.

L'acide polygalacturonique utilisé avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 18.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 21.

Tableau 21

Groupe d'expérience	Poids moyen par pied de chou de Chine
Groupe témoin	4,9 ± 1,4 (100)
Groupe additionné	5,8 ± 1,3 (118)

Les valeurs numériques entre parenthèses sont les valeurs (%) du groupe additionné, la valeur moyenne du groupe témoin étant posée comme égale à 100 %.

- 5 Comme il ressort clairement du tableau 21, on a observé une augmentation de rendement de 18 % par addition de l'oligosaccharide de l'acide polygalacturonique à la terre.

Exemple 21

- 10 Après avoir dissous 20 g de glucomannane dans un litre d'eau et avoir ajusté le pH de la solution à 5,0, on ajoute à la solution 200 mg d'une préparation de cellulase ayant une activité de mannase (Meicelase, marque commerciale, fabriquée par la
- 15 Société Meiji Seika Kaisha, Ltd.) et on termine la réaction, on ajoute au mélange réactionnel 2 g de levure de boulanger et on effectue la réaction pendant 24 heures à 25°C. Pour éliminer les monosaccharides, on décolore le produit de la réaction
- 20 par addition de 1 % de carbone actif. On filtre le mélange réactionnel et on concentre le filtrat, ce qui donne 120 ml d'une solution aqueuse contenant 10 % P/V d'oligosaccharide du glucomannane.

- On détermine l'action d'accélération de
- 25 la croissance des plantes de l'oligosaccharide de glucomannane ainsi obtenu en utilisant des Kaiware Daikon. On place 36 grains de semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et après leur avoir
- 30 ajouté 70 ml d'eau du robinet, on cultive les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C et pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide du glucomannane a été ajouté dans les rapports indiqués de 2,5 % à 0,000025 %

par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 22.

Tableau 22

	Quantité d'oligosaccharide de pectine ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
5	2,5	76	91
	0,25	140	330
	0,025	137	316
	0,0025	112	254
10	0,00025	107	132
	0,000025	98	101

(n=36)

Les valeurs numériques du tableau 22 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur des racines dans chaque cas, celles de la plante cultivée sans oligosaccharide du glucomannane étant posées comme égales à 100.

Comme il ressort clairement du tableau 22, par addition de l'oligosaccharide du glucomannane, on a observé une action d'accélération de la croissance de 140 % au maximum pour la longueur tige-feuille et de 330 % au maximum pour la longueur des racines.

Exemple 22

Après avoir placé 2 grains de semences de mélinet (mélinet à tige blanche) sur un mat de résine synthétique de 4 cm x 4 cm, on plonge le mat dans un engrais liquide contenant 0,15 % d'Otsuka House n° 1 et 0,1 % d'Otsuka House n° 2 et on cultive les semences pendant 10 jours sous une irradiation de 500 lux pour effectuer la germination et la culture assidue. On transplante ensuite les jeunes plants obtenus dans un appareil d'hydroculture et on les cultive pendant 2,5 mois sous 8000 lux et à 23-24°C. Les groupes d'expériences utilisées ont été les

suivants.

Groupe témoin :

Après culture assidue avec l'engrais liquide ne contenant pas d'oligosaccharide du glucomannane, les jeunes plants ont également été cultivés avec l'engrais liquide ne contenant pas d'oligosaccharide du glucomannane.

Groupe additionné :

Après culture assidue avec l'engrais liquide contenant 0,025 % de glucomannane, on a cultivé les jeunes plants avec de l'engrais liquide contenant 0,025 % d'oligosaccharide du glucomannane.

L'oligosaccharide du glucomannane utilisé avait été préparé de la même manière que dans l'exemple 21. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 23.

Tableau 23

Groupe d'expérience	Longueur moyenne de la tige (cm)	Longueur moyenne de la racine (cm)
20 Groupe additionné d'oligosaccharide de glucomannane	24,8	2,7
Groupe témoin	20,8	1,8
		(n=20)

25 Exemple 23

Après avoir dissous 30 g d'agarose dans 3 litres d'eau et avoir ajusté le pH de la solution à 6,0, on ajoute de l'agarase à la solution à 40 unités par gramme d'agarose et on effectue la réaction pendant 72 heures à 40°C. Lorsque la réaction est terminée, on refroidit le mélange réactionnel à 1 à 5°C, on le laisse reposer pendant 24 heures pour former un précipité que l'on élimine par filtration, on concentre le filtrat ainsi obtenu et on le lyophilise, ce qui donne 18 g d'agaro-oligosaccharide.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'agaro-oligosaccharide ainsi obtenu a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. 36 grains de semences de Kaiware Daikon ont été placés sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et, après leur avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours, dans l'obscurité, à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, on a ajouté l'agaro-oligosaccharide dans les rapports indiqués de 2,5 % à 0,0025 % par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 24.

Tableau 24

Quantité d'agaro-oligosaccharide ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
2,5	86	92
0,25	109	145
0,025	111	169
0,0025	103	100

(n=36)

Les valeurs numériques du tableau 24 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur des racines des Kaiware Daikon, celles de Kaiware Daikon cultivés sans l'agaro-oligosaccharide étant posées comme égales à 100 %.

Comme il ressort clairement du tableau 24, l'agaro-oligosaccharide a accéléré la croissance de la tige-feuille et de la racine de la plante à des concentrations d'addition de 0,25 % à 0,025 %.

Exemple 24

A 20 g de cellulose pulvérisée (Avicell, marque commerciale, fabriquée par Asahi Kasei Kogyo

Co Ltd) on ajoute 40 ml d'acide chlorhydrique et 40 ml d'acide sulfurique, puis on effectue la réaction pendant 5 heures à 25°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel avec de l'hydroxyde de sodium aqueux à 30 % puis on le soumet à un traitement de désalinisation par chromatographie sur colonne en utilisant une colonne remplie de Biogel P-2. Par ce traitement, une fraction de l'oligosaccharide de cellule ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 est séparée, concentrée, puis lyophilisée, ce qui fournit 7,5 g d'oligosaccharide de cellule.

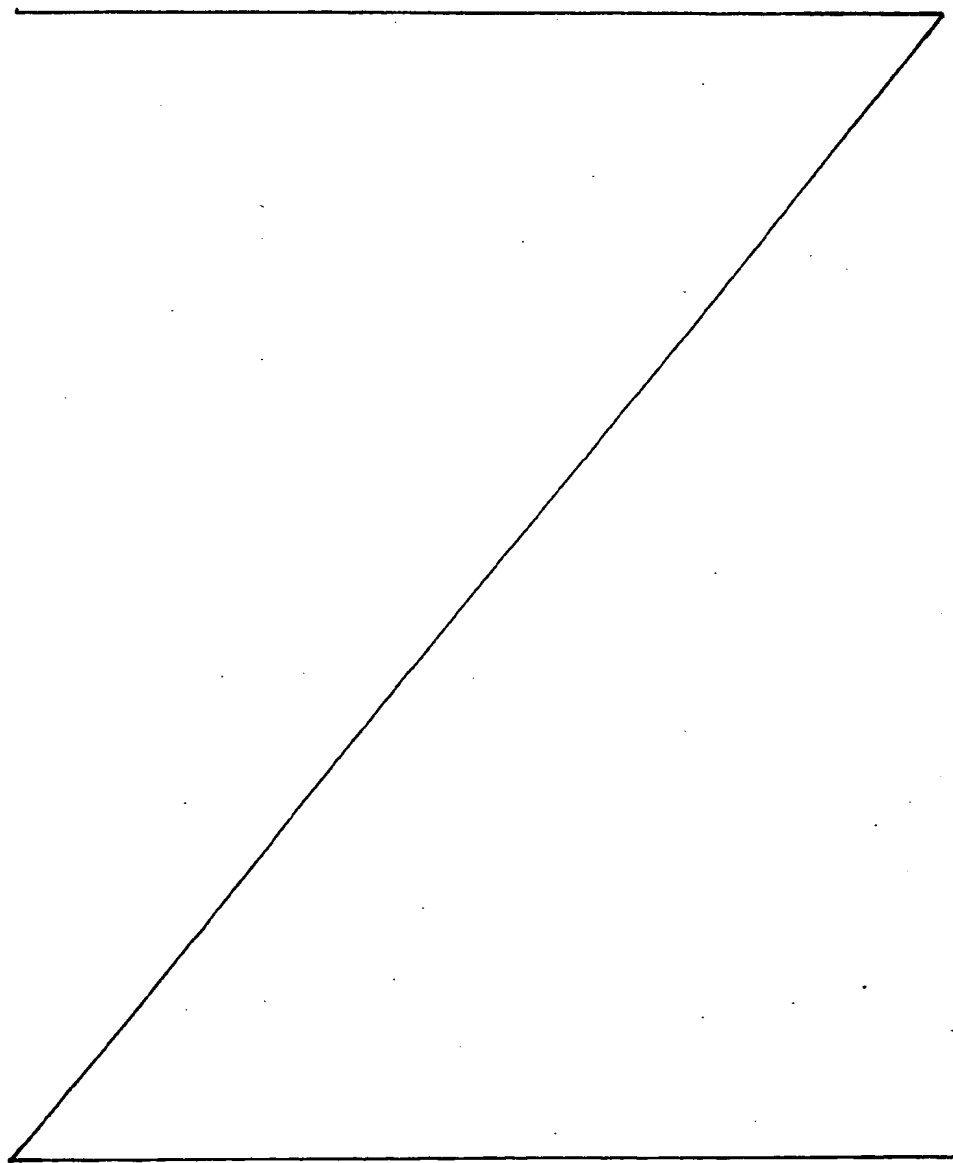
L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide de cellule ainsi obtenu a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains de semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70 ml d'eau du robinet, on a cultivé les graines pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C et pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide de cellule a été ajouté dans les rapports indiqués de 2,5 % à 0,0025 % par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 25 ci-dessous.

Tableau 25

	Quantité d'oligosaccharide de cellules ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
30	2,5	86	79
	0,25	110	186
	0,025	113	192
	0,0025	102	101

(n=36)

Les valeurs numériques du tableau 25 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur des racines dans chaque cas, celles de la plante cultivée sans l'oligosaccharide de cellule étant posées comme égales à 100 %.



Comme il ressort clairement du tableau 25, l'oligosaccharide de cellules a accéléré la croissance de la tige-feuille et de la racine de la plante à des concentrations allant de 0,25% à 0,025%.

Exemple 25.

Après avoir broyé 100kg de tubercules de girasol (*Helianthus tuberosus* L) au moyen d'un broyeur, on leur ajoute 400l d'eau pour réaliser une suspension contenant 20% de constituants solides. Ensuite, après avoir ajouté de l'acide oxalique à la concentration finale de 0,1N, on effectue l'hydrolyse pendant 1h à 60°C. On neutralise le mélange réactionnel avec du carbonate de calcium, on le filtre au moyen d'un séparateur centrifuge ou d'un filtre presse, après quoi on le concentre et on le sèche, ce qui donne 8,2kg d'un produit en poudre.

L'inulooligosaccharide ainsi préparé se compose principalement de F₂ à F₆, comme le montre le tableau 26, dans lequel G représente le glucose et F représente le fructose.

Tableau 26

Produit hydrolysé	G, F	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇₋₁₀
Teneur (%)	33,2	19,2	13,0	9,8	7,8	5,6	11,4

En traitant 50g de la composition ainsi obtenue par chromatographie sur colonne en utilisant une colonne remplie de Biogel P-2, on obtient 23g d'un inulooligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'inulooligosaccharide ainsi obtenu

a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains de semence de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et on leur a ajouté 70 ml d'eau, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'inulooligosaccharide a été ajouté dans les rapports indiqués de 2,5% à 0,0025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 27.

Tableau 27

Quantité d'inulooligo- saccharide ajoutée (%)	Longueur Tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
2,5	90	91
0,25	108	124
0,025	111	156
0,0025	100	103
(n = 36)		

Les valeurs figurant dans le tableau 27 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine dans chaque cas, celles de Kaiware Daikon cultivés sans l'inulooligosaccharide étant posées égales à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau 27, l'inulooligosaccharide a accéléré la croissance de la tige-feuille et de la racine de la plante à des concentrations d'addition de 0,25% à 0,025%.

Exemple 26.

Après avoir dissous 20g de mannane dans 500ml d'eau chaude, on ajoute à la solution 500ml

d'une solution aqueuse 1N d'acide chlorhydrique et on effectue l'hydrolyse pendant 2h à 90°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel, ce qui donne un produit de décomposition. La teneur en oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 dans le produit de décomposition est de 43%.

On détermine ensuite l'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide de mannan ainsi obtenu en utilisant des Kaiware Daikon. On place 36 grains de semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposée dans un récipient de verre et, après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on cultive les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C et pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide de mannane a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,25% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 28.

Tableau 28

	Quantité d'oligosaccharide de Mannane ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
	0,25	114	189
	0,025	121	241
	0,0025	110	166
	0,00025	102	104
			(n = 36)

Les valeurs numériques du tableau 28 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine dans chaque cas, celles de Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide de mannane étant posées comme égales à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau 28, l'oligosaccharide de mannane a accéléré la croissance de la tige-feuille et de la racine de la plante à des concentrations d'addition de 0,25% à 0,025%.

Exemple 27.

Après avoir dissous 20g de fucoïdine dans 500ml d'eau chaude, on ajoute à la solution 500ml d'une solution aqueuse 1N d'acide chlorhydrique et on effectue l'hydrolyse de la fucoïdine pendant 2 heures à 90°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel, ce qui donne un produit de décomposition. La teneur en oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 dans le produit de décomposition est de 43%.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide de fucoïdine ainsi obtenu a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains de semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et, après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide de fucoïdine a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,25% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 29.

Tableau 29

	Quantité d'oligosaccharide de la fucoïdine ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
5	0,25	114	189
	0,025	129	263
	0,0025	109	143
	0,00025	100	103
10			(n = 36)

Les valeurs numériques du tableau 29 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine de Kaiware Daikon dans chaque cas, celles de Kaiware Daikon cultivés sans oligosaccharide de la fucoïdine étant posées comme égales à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau 29, l'oligosaccharide de la fucoïdine a accéléré la croissance de la tige-feuille et de la racine de la plante aux concentrations d'addition de 0,25% à 0,0025%.

Exemple 28.

Après avoir dissous 20g de gomme arabique dans 500ml d'eau chaude, on ajoute 500ml de solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1N et on effectue l'hydrolyse pendant 2 heures à 90°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel, ce qui donne un produit de décomposition. La teneur de l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 dans le produit de décomposition est de 34%.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide de gomme arabique

ainsi obtenu a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains des semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre et, après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C et pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide de la gomme arabique a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,25% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 30.

Tableau 30

Quantité d'oligosaccharide de la gomme arabique ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
0,25	110	141
0,025	114	189
0,0025	106	121
0,00025	98	100

(n = 36)

Les valeurs numériques du tableau 30 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine des Kaiware Daikon dans chaque cas, celles de Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide de la gomme arabique étant posées comme égales à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau 30, l'oligosaccharide de gomme arabique a accéléré la croissance de la tige-feuille et de la racine

de la plante aux concentrations d'addition de 0,25% à 0,0025%.

Exemple 29.

5 Après avoir dissous 20g d'acide
polyéthylène glycol alginique dans 500ml d'eau
chaude, on ajoute à la solution 500ml d'une solution
aqueuse d'acide chlorhydrique 1N et on effectue
l'hydrolyse pendant 2 heures à 90°C. Lorsque la
10 réaction est terminée, on neutralise le mélange
réactionnel formé pour obtenir un produit de
décomposition. La teneur de l'oligosaccharide ayant
un degré de polymérisation de 2 à 10 dans le produit
de décomposition est de 58%.

15 L'action d'accélération de la croissance
des plantes de l'oligosaccharide de l'acide
polyéthylène glycol alginique ainsi obtenu a été
déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On
a placé 36 grains des semences de Kaiware Daikon
sur un mat de résine synthétique disposé dans un
20 récipient de verre, et, après leur avoir ajouté
70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences
pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant
2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans
ce cas, l'oligosaccharide de l'acide polyéthylène
25 glycol alginique a été ajouté dans les rapports
indiqués de 0,25% à 0,00025% par rapport à la
quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus
sont donnés dans le tableau 31 ci-dessous.

Tableau 31

Quantité d'oligosaccharide de l'acide polyéthylène glycol alginique ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
0,25	108	146
0,025	114	206
0,0025	109	169
0,00025	101	98

(n = 36)

Les valeurs numériques du tableau 31 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine des Kaiware Daikon dans chaque cas, celles de Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide de l'acide polyéthylène glycol alginique étant posées comme égales à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau 31, l'oligosaccharide de l'acide polyéthylène glycol alginique a accéléré la croissance de la tige et de la racine de la plante à des concentrations d'addition de 0,25% à 0,0025%.

Exemple 30.

Après avoir dissous 20g de carraghénine dans 500ml d'eau chaude, on ajoute à la solution 500ml d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1N et on effectue l'hydrolyse pendant 2 heures à 90°C. Lorsque la réaction est terminée, on neutralise le mélange réactionnel formé pour obtenir un produit de décomposition. La teneur de l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 10 dans le produit de décomposition est de 38%.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide de la Carraghénine

ainsi obtenu a été déterminée sur des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains de semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et, après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant deux jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide de la carraghénine a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,25% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 32.

Tableau 32

Quantité d'oligosaccharide de la Carraghénine ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
0,25	105	124
0,025	110	181
0,0025	106	141
0,00025	94	98
(n = 36)		

25

Les valeurs numériques du tableau 32 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine des Kaiware Daikon dans chaque cas, celles des Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide de la carraghénine étant posées comme égales à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau 32, l'oligosaccharide de la carraghénine a accéléré la croissance de la tige-feuille et de la racine de la plante à des concentrations d'addition de

0,25% à 0,0025%.

Exemple 31.

On soumet Azotobacter Vinelandii IAM
1078 à une culture agitée dans 30ml d'un milieu
5 de culture liquide introduit dans un Erlenmeyer
(stérilisé pendant 15 min à 120°C) et contenant
0,025% de KH_2PO_4 , 0,0005% de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0125%
de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0005% de $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,025% de
10 NaCl , 0,0005% de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, et 2,0% de saccharose
pendant 72 heures à 240 tours/min et à 30°C, pour
obtenir une solution de culture de semences.

On introduit ensuite dans un Erlenmeyer
d'un litre, 400ml du milieu de culture ayant la
composition ci-dessus, et, après stérilisation
15 par un procédé ordinaire pendant 30 minutes à 120°C,
on y ajoute 20 ml de la solution de culture de
semences préparée ci-dessus et on effectue la culture
à 240 tours/minute pendant 5 jours à 30°C. Après
avoir ajouté 2 litres d'eau à 2 litres de liquide
20 de culture ainsi obtenu, on soumet le mélange à
une séparation centrifuge pendant 40min sous 10000G,
grâce à quoi on obtient 1,9 litre d'un liquide
surnageant. On concentre le liquide à 300ml, on
y ajoute de l'éthanol pour précipiter le
25 polysaccharide, lequel est recueilli par séparation
centrifuge, pour donner 1,2 g de polysaccharide.

Au polysaccharide ainsi obtenu, on ajoute
1,2 litre d'eau pour former une solution aqueuse
à 0,1%, on ajoute de l'acide chlorhydrique à la
30 solution à une concentration finale de 0,1N, et,
après avoir effectué l'hydrolyse pendant 6 heures
à 100°C, on neutralise le mélange réactionnel obtenu
avec l'hydroxyde de sodium pour obtenir le produit
de décomposition désirée.

35 On concentre le produit de décomposition
ainsi obtenu à 20ml, on le dessalinise par

chromatographie sur colonne en utilisant une colonne remplie de Sephadex G25, et on recueille la fraction contenant l'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20, on la concentre et on la lyophilise, ce qui donne 420mg d'oligosaccharide.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu et aussi du polysaccharide avant la décomposition a été déterminée sur des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains des semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et, après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C et pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide, etc., a été ajouté à chaque fois aux concentrations indiquées de 0,025% à 0,00025%. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 33.

Tableau 33

Echantillon	Quantité ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
A	0,025	138	265
A	0,0025	121	248
A	0,00025	113	185
B	0,025	98	100
Témoin	0	100	100

(n=36)

30 A : Oligosaccharide obtenu en décomposant le polysaccharide de Azotobacter vinelandii.
 B : Polysaccharide produit par Azotobacter vinelandii.

Les valeurs numériques du tableau 33 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine des Kaiware Daikon dans chacun des cas, celles de Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide ni le polysaccharide étant posées comme égales à 100%.

Exemple 32.

Dans un pot de 17cm x 60cm x 15cm, on place 9kg de terre noire, et après avoir semé 40 grains de semences de chou de Chine (chou Misugi) dans le sol, on cultive les semences pendant 30 jours dans les conditions naturelles. Les groupes d'expérience utilisés ont été les suivants :

Groupe témoin :

On n'a pas ajouté d'oligosaccharide.

Groupe additionné :

On a ajouté à la terre noire une solution aqueuse de 2,2g de l'oligosaccharide dans 3,6 l d'eau, à une concentration de 0,025% par rapport à la quantité de terre, et on a effectué la culture.

En outre, on a préparé l'oligosaccharide utilisé à partir de 10 litres du liquide de culture comme il a été décrit dans l'exemple 31. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 34.

Tableau 34

<u>Groupe d'expérience</u>	<u>Valeur moyenne par pied de chou de Chine</u>
Témoin	4,8 ± 1,5 (100)
Groupe additionné de 0,025%	5,2 ± 1,4 (108)

La valeur numérique entre parenthèses est la valeur observée dans l'essai, la valeur moyenne du groupe témoin étant posée comme égale à 100%.

- 5 Comme il ressort clairement du tableau ci-dessus, on a observé une augmentation du rendement de 8% par addition de l'oligosaccharide dans le sol.

Exemple 33.

- 10 Dans un Erlenmeyer de 250 ml, on introduit 30ml d'un milieu de culture contenant 1,0% de mannitol, 0,1% de $MgCl_2$, 0,1% de glutamate de sodium, 0,1% de K_2HPO_4 , 0,02% de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,004% de $CaCl_2$, et 10 γ de biotine, 100 γ de thiamine, 2,5mg
15 de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 0,01 mg de H_3BO_3 , 0,01mg de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01mg de $CoCl_2 \cdot 7H_2O$, 0,1mg de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, et 0,01mg de $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ par litre du milieu de culture comme agents nutritifs mineurs et, après stérilisation du milieu de culture pendant
20 15 minutes à 120°C, on a cultivé Agrobacterium timefaciens IAM 1037 dans le milieu de culture à 240 tours/minute pendant 3 jours à 25°C, pour obtenir la première solution de culture de semences.

- On a également introduit 300ml du milieu
25 de culture ci-dessus dans un Erlenmeyer d'un litre, et après avoir stérilisé le milieu de culture pendant 15 minutes à 120°C, on lui a ajouté 10 ml de la première solution de culture de semences obtenue ci-dessus et on l'a cultivée à 240 tours/minute
30 pendant 3 jours à 25°C pour obtenir la deuxième solution de culture de semences.

- On a ensuite introduit 20 litres du milieu de culture ayant la même composition que ci-dessus dans un fermenteur à flacon de 30 litres, et après
35 avoir stérilisé le milieu de culture pendant 30

minutes à 120°C, on a inoculé 100ml de la seconde solution de culture de semences dans le milieu et on l'a cultivé à 200 tours/minute pendant 6 jours à 25°C. Après avoir ajouté 20 litres d'eau à 20 litres du liquide de culture, on a soumis le mélange à une séparation centrifuge pendant 30 minutes sous 10000G pour éliminer les cellules, on a concentré le liquide surnageant à 4 litres, et on lui a ajouté 10 litres d'éthanol pour précipiter le polysaccharide, qui a été séparé par séparation centrifuge et séché pour donner 24g de polysaccharide.

Après avoir dissous 10g du polysaccharide dans 10 litres d'eau, on y ajoute de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 0,1N, on effectue l'hydrolyse pendant 6 heures à 100°C, puis on neutralise le mélange réactionnel obtenu avec de l'hydroxyde de sodium. On concentre ensuite le mélange réactionnel à 100ml et on le soumet à un traitement par une colonne remplie de Sephadex G-25 pour effectuer la dessalinisation et aussi pour obtenir une fraction contenant un oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20. On concentre la fraction et on la lyophilise, ce qui donne 3,4g du produit désiré.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu et du polysaccharide avant sa décomposition a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains de semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient en verre, et, après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, et pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide, etc., a été ajouté dans

rapports indiqués de 0,025% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 35.

Tableau 35

Echantillon	Quantité ajoutée (%)	Longueur	Longueur
		tige-feuille (%)	des racines (%)
A	0,025	110	214
10 A	0,010	112	245
A	0,005	100	181
A	0,0025	98	121
A	0,00025	102	108
15 B	0,025	100	101
Témoin	0	100	100

(n = 36)

20 A: Oligosaccharide obtenu en décomposant le polysaccharide produit par Agrobacterium tumefaciens.

B: Polysaccharide produit par Agrobacterium tumefaciens.

25 Les valeurs numériques du tableau 35 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur des racines des Kaiware Daikon dans chaque cas, avec celles d'un Kaiware Daikon cultivé sans l'oligosaccharide ni le polysaccharide.

30 Exemple 34.

Dans un pot de 17cm x 60cm X15cm, on place 9kg de terre noire et l'on sème 40 grains

de semence de chou de Chine (chou Misugi) dans le sol et on les cultive pendant 30 jours dans les conditions naturelles. Les groupes d'expérience utilisés ont été les suivants.

5 Groupe témoin :

On n'a pas ajouté d'oligosaccharide.

Groupe additionné :

10 On a ajouté à la terre noire une solution aqueuse de 11g ou de 2,2g d'oligosaccharide dans 3,6l d'eau à raison de 0,25% ou de 0,025% de celui-ci par rapport à la quantité de terre, et on a effectué la culture en utilisant la terre.

15 L'oligosaccharide utilisé dans l'essai a été préparé à partir de 40l du liquide de culture obtenu de la même manière que dans l'exemple 33.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau 36.

20

Tableau 36

<u>Groupe d'expérience</u>	<u>Poids moyen par pied de chou de Chine</u>
Témoin	4,9 ± 1,4 (100)
Groupe additionné de 0,125%	5,4 ± 1,5 (110)
Groupe additionné de 0,025%	5,1 ± 1,5 (104)
(n = 40)	

25

30

Les valeurs numériques indiquées entre parenthèses sont les valeurs (%) dans chaque cas, la valeur moyenne du groupe témoin étant posée comme égale à 100%.

35

Comme il ressort clairement du tableau ci-dessus, en ajoutant l'oligosaccharide au sol à une concentration de 0,125% à 0,025%, on observe une augmentation de rendement de 4% à 10%.

5 Exemple 35.

 Dans un Erlenmeyer de 250ml, on place un milieu de culture contenant 1,0% de mannitol, 0,1% de $MgCl_2$, 0,1% de glutamate de sodium, 0,1% de K_2HPO_4 , 0,02% de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,004% de $CaCl_2$,
10 et 10γ de biotine, 100γ de thiamine, 2,5mg de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 0,01mg de H_3BO_3 , 0,01mg de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01mg de $CoCl_2 \cdot 7H_2O$, 0,01mg de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, et 0,01mg de $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ par litre du milieu de culture comme agents nutritifs mineurs, et après avoir
15 stérilisé le milieu de culture pendant 15 minutes à 120°C, on inocule Rhizobium meliloti IAM 12611 et on le cultive à 240 t/min pendant 3 mois à 25°C, ce qui donne une première solution de culture de semences.

20 On introduit également 300ml d'un milieu de culture ayant la même composition que ci-dessus dans un Erlenmeyer d'un litre, et après avoir stérilisé le milieu pendant 15 minutes à 120°C, on inocule la première solution de culture de
25 semences décrite ci-dessus et on la cultive à 240 t/min pendant 3 jours à 25°C, pour obtenir la deuxième solution de culture d'ensemencement.

 On introduit en outre 20 litres d'un milieu de culture ayant la même composition que
30 ci-dessus dans un fermenteur à baux de 30 litres, et après avoir stérilisé le milieu pendant 30 minutes à 120°C, on inocule 100ml de la seconde solution de culture d'ensemencement et on la cultive à 200
35 t/min pendant 6 jours à 25°C. Puis on ajoute 20

litres d'eau à 20 litres du liquide de culture obtenu, on soumet le mélange à une séparation centrifuge pendant 30 minutes à 10000 G pour éliminer les cellules, on concentre le liquide surnageant formé à 4 litres, et on lui ajoute 10 litres d'éthanol pour précipiter le polysaccharide, qui est séparé par séparation centrifuge et séché pour donner 12g de polysaccharide.

Après avoir dissous 10g du polysaccharide ainsi obtenu dans 10 litres d'eau, on y ajoute de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 0,1 N et on effectue l'hydrolyse pendant 6 heures à 100°C. Puis on neutralise le mélange réactionnel obtenu avec de l'hydroxyde de sodium, on le concentre à 200ml, et on le soumet à un traitement en utilisant une colonne remplie de Sephadex G-25 pour effectuer la dessalinisation et pour obtenir une fraction d'un oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20. On concentre la fraction et on la lyophilise, ce qui fournit 4,8g du produit désiré.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu et du polysaccharide avant décomposition ont été déterminées en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains des semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique, dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide, etc., a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,025% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 37.

35

Tableau 37

	Echantillon	Quantité ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
5	A	0,025	102	119
	A	0,010	108	195
	A	0,005	110	171
10	A	0,0025	100	168
	A	0,00025	101	261
	B	0,025	98	97
	Témoin	0	100	100

(n = 36)

A: Oligosaccharide obtenu en décomposant le polysaccharide produit par Rhizobium meliloti.

B: Polysaccharide produit par Rhizobium meliloti.

Les valeurs numériques du tableau 37 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur de racine des Kaiware Daikon dans chaque cas, avec celles du cotylédon cultivé sans l'oligosaccharide, ni le polysaccharide.

Exemple 36.

Dans un pot de 17cm x 60cm x 15cm, on place 9kg de terre noire, et on sème dans la terre 40g de semences de chou de Chine (chou Misugi) et on les cultive pendant 30 jours dans les conditions naturelles. Les groupes d'expérience utilisés ont été les suivants.

Groupe témoin :

On n'a pas ajouté d'oligosaccharide.

Groupe additionné :

On a ajouté à la terre noire une solution

aqueuse de 22g ou 2,2g d'oligosaccharide dans 3,6l d'eau à raison de 0,25% ou 0,025% par rapport à la quantité de terre, et on a effectué la culture en utilisant la terre.

5 L'oligosaccharide utilisé avait été préparé à partir de 40l du liquide de culture conformément au procédé décrit dans l'exemple 35, suivi d'une hydrolyse par l'acide chlorhydrique et d'une neutralisation.

10 Les résultats sont donnés dans le tableau 38.

Tableau 38

15	<u>Groupe d'expérience</u>	<u>Poids moyen par pied de chou de Chine</u>
	Témoin	4,6 ± 1,6 (100)
	Groupe additionné de 0,125%	5,1 ± 1,4 (111)
20	Groupe additionné de 0,025%	5,0 ± 1,7 (109)
		(n = 40)

25 Les valeurs numériques entre parenthèses sont les valeurs dans chaque cas, la valeur moyenne du groupe témoin étant posée comme égale à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau ci-dessus, on a observé une augmentation de rendement de 9% à 11% par addition de l'oligosaccharide à la terre à raison de 0,25% ou de 0,025%.

Exemple 37.

35 Dans un Erlenmeyer de 250ml, on introduit 30ml d'un milieu de culture contenant 1% de lactose, 0,5 % de peptone, 0,1% de KH_2PO_4 , 0,05% de

MgSO₄.7H₂O, et 0,0033% de Rose Bengale, et après stérilisation du milieu de culture pendant 15 minutes à 120°C, on inocule une boucle de platine d'Enterobacter cloacae FERM-8968 et on la cultive à 240t/min pendant 24 heures à 30°C pour obtenir la première solution de culture d'ensemencement.

Puis on introduit dans un Erlenmeyer d'un litre, 300ml du milieu de culture ayant la composition décrite ci-dessus après stérilisation pendant 15 minutes à 120°C, on leur inocule 10ml de la première solution de culture d'ensemencement et on cultive à 240t/min pendant 24 heures à 30°C pour obtenir la seconde solution de culture d'ensemencement.

On place également 20l d'un milieu de culture ayant la même composition que ci-dessus dans un fermenteur à boccas de 30 litres, et après avoir stérilisé pendant 30 minutes à 120°C, on inocule 100ml de la seconde culture d'ensemencement et on cultive à 240t/min pendant 2 jours à 30°C.

Puis, on ajoute 20 litres d'eau à 20 litres du milieu de culture ainsi obtenu, on soumet le mélange à une séparation centrifuge pendant 40 minutes à 10000 G pour éliminer les cellules, on concentre le liquide surnageant formé à 3 litres, et on ajoute au concentré 7 litres d'éthanol pour précipiter le polysaccharide, lequel est séparé par séparation centrifuge et séché pour donner 16g de polysaccharide.

Après dissolution de 10g du polysaccharide dans 1 litre d'eau, on ajoute à la solution de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 0,1 N, on effectue l'hydrolyse pendant 4 heures à 100°C, et on neutralise le mélange réactionnel formé avec de l'hydroxyde de sodium. Puis on

concentre le mélange réactionnel à 100ml et on le traite dans une colonne remplie de Sephadex G-25, pour effectuer la dessalinisation et recueillir aussi une fraction d'oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20. La fraction est ensuite concentrée et lyophilisée pour donner 4,2g du produit désiré.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu et du polysaccharide avant décomposition a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. C'est-à-dire que l'on a placé 36 grains de semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide, etc. a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,025% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 39.

Tableau 39

5	<u>Echantillon</u>	<u>Quantité ajoutée (%)</u>	<u>Longueur tige-feuille (%)</u>	<u>Longueur des racines (%)</u>
	A	0,025	116	206
	A	0,010	121	198
	A	0,005	119	185
10	A	0,0025	118	169
	A	0,00025	113	168
	B	0,025	114	196
15	B	0,010	114	184
	B	0,005	110	169
	B	0,0025	110	144
	B	0,00025	103	101

20

(n = 36)

A: Oligosaccharide obtenu par décomposition
du polysaccharide produit par
Enterobacter cloacae

25

B: Polysaccharide produit par Enterobacter
cloacae

30

Les valeurs numériques du tableau 39
sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille
et de la longueur de racine des Kaiware Daikon
dans chaque cas, avec celles de Kaiware Daikon
cultivés sans l'oligosaccharide, ni le
polysaccharide.

35

Comme il ressort clairement des résultats
du tableau 38, l'oligosaccharide obtenu en
décomposant le polysaccharide produit par
Enterobacter cloacae a présenté une action

d'accélération de la croissance pour la plante pour une quantité ajoutée de 0,025% à 0,00025%.

D'autre part, le polysaccharide produit par Enterobacter cloacae a présenté une accélération de la croissance pour 0,025% à 0,0025%.

Exemple 38.

Dans un pot de 17cm x 60cm x 15cm, on place 9kg de terre noire et on sème dans la terre 40 grains de semence de chou de Chine (chou Misugi) et on les cultive pendant 30 jours dans des conditions naturelles. Les groupes d'expérience utilisés ont été les suivants.

Groupe témoin :

On n'a pas ajouté d'oligosaccharide.

Groupe ayant reçu une application sur la surface des feuilles :

On a appliqué sur les surfaces des feuilles des choux de Chine, tous les 7 jours au cours de la culture, une solution aqueuse de 160mg ou de 16mg de l'oligosaccharide dans 80ml d'eau.

L'oligosaccharide utilisé a été préparé de la même manière que dans l'exemple 37. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 40.

Tableau 40

Groupe d'expérience	Poids moyen par pied de chou de Chine
Groupe témoin	4,9 ± 1,4 (100)
30 Groupe ayant reçu une appli- cation sur la surface des feuilles (4mg/pied)	7,3 ± 1,4 (149)
Groupe ayant reçu une appli- cation sur la surface des feuilles (0,4mg/pied)	7,1 ± 1,5 (145)
35	(n = 40)

Les valeurs numériques entre parenthèses sont les valeurs (%) de chaque cas, la valeur moyenne du groupe témoin étant posée comme égale à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau ci-dessus, en appliquant l'oligosaccharide sur les surfaces des feuilles de choux de Chine à raison de 0,4mg ou 4,0mg par pied, on a obtenu une augmentation du rendement de 45% à 49%.

Exemple 39.

Après avoir dissous 1g d'un polysaccharide (fabriqué par Sigma Co.) produit par Zoogloea ramigera dans 1 litre d'eau, on ajoute de l'acide chlorhydrique à la solution à une concentration finale de 0,1 N, et après hydrolyse du polysaccharide pendant 4 heures à 100°C, on neutralise le mélange réactionnel obtenu avec de l'hydroxyde de sodium. On concentre la solution contenant le produit décomposé ainsi obtenu à 50ml et on le fait passer à travers une colonne remplie de Sephadex G-25 pour effectuer la dessalinisation et aussi pour récupérer une fraction contenant un oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 10 à 20. On concentre la fraction et on la lyophilise, ce qui donne 320mg d'oligosaccharide.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu et du polysaccharide avant décomposition, a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains des semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et, après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant

35

2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide, etc. a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,025% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 41.

Tableau 41

	<u>Echantillon</u>	<u>Quantité ajoutée (%)</u>	<u>Longueur tige-feuille (%)</u>	<u>Longueur des racines (%)</u>
10	A	0,025	120	263
	A	0,010	109	240
	A	0,005	110	201
15	A	0,0025	111	186
	A	0,00025	100	131
	B	0,025	100	101
	témoin	0	100	100

(n = 36)

A : Oligosaccharide obtenu en décomposant le polysaccharide produit par Zoogloea ramigera.

B : Polysaccharide produit par Zoogloea ramigera.

Les valeurs numériques du tableau 40 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur des racines des Kaiware Daikon dans chacun des cas, avec celles de Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide, etc.

Exemple 40.

Après avoir dissous 50g de gomme Xanthane (fabriquée par la société Sigma. Co.), un polysaccharide du commerce produit par des microorganismes appartenant au genre Xanthomonas, dans 5 litres d'eau, on ajoute de l'acide chlorhydrique à la solution à une concentration finale de 0,1 N, et après avoir effectué l'hydrolyse pendant 7 heures à 100°C, on neutralise le mélange réactionnel avec de l'hydroxyde de sodium. Puis on concentre la solution contenant le produit décomposé ainsi obtenu à 500ml et on le fait passer à travers une colonne remplie de Sephadex G-25 pour effectuer la dessalinisation et aussi pour récupérer une fraction contenant un oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20. On concentre la fraction et on la lyophilise, ce qui donne 21g d'oligosaccharide.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu et du polysaccharide avant décomposition ont été déterminées en utilisant des Kaiware Daikon. 36 grains des semences de Kaiware Daikon ont été placés sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on cultive les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide etc., a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,025% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 42.

Tableau 42

⁵ Echantillon	Quantité ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
A	0,025	113	216
A	0,010	107	126
¹⁰ A	0,005	105	192
A	0,0025	105	143
A	0,00025	98	101
B	0,025	99	98
¹⁵ témoin	0	100	100

(n = 36)

A : Oligosaccharide obtenu en décomposant
la gomme Xanthane.

20

B : Gomme Xanthane.

Les valeurs numériques figurant dans
le tableau 41 sont les valeurs (%) de la longueur
tige-feuille et de la longueur des racines des
Kaiware Daikon dans chaque cas, avec celles de
²⁵ Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide,
etc.

Exemple 41.

Dans un pot de 17cm x 60cm x 15cm, on
place 9kg de terre noire et on sème dans la terre
³⁰ 40 grains de semence de chou de Chine (chou Misugi),
et on les cultive pendant 30 jours dans les
conditions naturelles. Les groupes d'expérience
utilisés ont été les suivants :

Groupe témoin :

35

On n'a pas ajouté d'oligosaccharide.

Groupe additionné :

On a ajouté à la terre noire une solution aqueuse de 2,2g d'oligosaccharide dans 3,6 litres d'eau à raison de 0,025% par rapport à la terre, et on a effectué la culture en utilisant la terre.

L'oligosaccharide utilisé a été préparé de la même manière que dans l'exemple 40. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 43.

Tableau 43

<u>Groupe d'expérience</u>	<u>Poids moyen par pied de chou de chine</u>
Témoin	$4,8 \pm 1,3$ (100)
Groupe additionné à 0,025%	$5,0 \pm 1,4$ (104)
	(n = 40)

La valeur numérique entre parenthèses est la valeur (%), la valeur moyenne du groupe témoin étant posée comme égale à 100%.

Comme il ressort clairement du tableau ci-dessus, par addition de l'oligosaccharide à la terre à raison de 0,025%, on a obtenu une augmentation de rendement de 4%.

Exemple 42.

Après avoir dissous 10g de gomme Geffane (fabriquée par la société Sanei Kagaku Kogyo K.K.), un polysaccharide du commerce produit par Pseudomonas elodea dans 10 litres d'eau, on a ajouté de l'acide chlorhydrique à la solution à une concentration finale de 1,0 N, et après avoir effectué l'hydrolyse pendant 15 minutes à 120°C, on a neutralisé le

- mélange réactionnel avec de l'hydroxyde de sodium. Puis on a concentré la solution contenant le produit de décomposition ainsi obtenue à 1000ml, et on l'a fait passer à travers une colonne remplie de
- 5 Sephadex 6-25 pour effectuer la dessalinisation, et aussi pour récupérer une fraction contenant un oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20. La fraction a été concentrée et séchée, pour donner 1,3 g de l'oligosaccharide.
- 10 L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. 36 grains des semences de Kaiware Daikon ont été placés sur un mat de résine synthétique disposé
- 15 dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide a été ajouté
- 20 dans les rapports indiqués de 0,025% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. L'expérience de l'addition de gomme Geffane à la terre noire à 0,025% a elle aussi été effectuée de la même manière que ci-dessus. Les résultats
- 25 obtenus sont indiqués dans le tableau 44.

Tableau 44

5	Quantité ajoutée (%)	Longueur	Longueur
		tige-feuille (%)	des racines (%)
	Oligosaccharide		
	0,025	136	306
	0,0025	121	254
	0,00025	116	231
10	Gomme gérane		
	0,025	102	114
	0,00025	98	101
	Témoin 0	100	100
15			(n = 36)

Les valeurs numériques du tableau 44 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur des racines de Kaiware Daikon dans chaque cas, celles de Kaiware Daikon cultivés sans l'oligosaccharide, etc. étant posées comme égales à 100%.

Exemple 43.

Après avoir dissous 1g de Nigerane, un polysaccharide du commerce produit par Aspergillus niger, dans 1 litre d'eau, on a ajouté de l'acide chlorhydrique à la solution à une concentration finale de 0,1 N, et après avoir effectué l'hydrolyse pendant 4 heures à 100°C, on a neutralisé le mélange réactionnel obtenu avec de l'hydroxyde de sodium. La solution contenant le produit de décomposition ainsi obtenu a été concentré à 50ml, et on l'a fait passer à travers une colonne remplie de Sephadex G-25 pour effectuer la dessalinisation et aussi pour recueillir une fraction contenant un oligosaccharide ayant un degré de polymérisation

de 2 à 20. La fraction a été concentrée et séchée pour donner 410mg de l'oligosaccharide.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu, et du polysaccharide avant décomposition a été déterminée en utilisant des Kaiware Daikon. On a placé 36 grains des semences de Kaiware Daikon sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C et pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide etc. a été ajouté dans les rapports indiqués de 0,025% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 45.

Tableau 45

20	<u>Echantillon</u>	<u>Quantité ajoutée (%)</u>	<u>Longueur tige-feuille (%)</u>	<u>Longueur des racines (%)</u>
	A	0,025	106	198
	A	0,010	102	165
	A	0,005	99	115
25	A	0,0025	100	111
	A	0,00025	98	103
	B	0,025	100	101
30	Témoin	0	100	100

(n = 36)

A : Oligosaccharide obtenu en décomposant le Nigeran.

B : Nigeran.

35

5 6. Procédé pour cultiver une plante, qui comprend le mélange d'un oligosaccharide accélérant la croissance de la plante avec un engrais liquide pour hydroculture, à une concentration de 2,5 g/ml à 250 g/ml.

10 7. Procédé pour cultiver une plante qui comprend l'application sur un engrais ou le mélange avec cet engrais d'un oligosaccharide accélérant la croissance de la plante dans un rapport de 0,1% à 0,5%, et l'utilisation de l'engrais ainsi traité.

REVENDICATIONS

1. Procédé pour cultiver une plante, qui comprend l'utilisation d'un oligosaccharide accélérant la croissance de la plante.

2. Procédé suivant la revendication 5 1, dans lequel l'oligosaccharide est au moins un oligosaccharide choisi parmi l'oligosaccharide de l'acide alginique, le xylooligosaccharide, un oligosaccharide obtenu en décomposant un polysaccharide de paroi cellulaire de plante, 10 un oligosaccharide de l'acide polygalacturonique, un oligosaccharide de la pectine, un oligosaccharide du glucomannane, un agarooligosaccharide, un oligosaccharide de cellules, un inulooligosaccharide, un oligosaccharide de mannane, 15 un oligosaccharide de fucoïdane, un oligosaccharide de gomme arabique, un oligosaccharide d'acide polyéthylène glycol alginique, un oligosaccharide de la carraghénine, et un oligosaccharide obtenu en décomposant un polysaccharide produit par des 20 microorganismes.

3. Procédé pour cultiver une plante, qui comprend l'utilisation d'une semence revêtue avec un oligosaccharide accélérant la croissance de la plante dans un rapport de 5% à 100% par 25 grain de semence.

4. Procédé pour cultiver une plante, qui comprend l'application sur la surface des feuilles de la plante d'une solution aqueuse de 20% / ml à 200% / ml d'un oligosaccharide accélérant 30 la croissance de la plante.

5. Procédé pour cultiver une plante, qui comprend l'application dans le sol d'une solution aqueuse de 30% / ml à 350% / ml d'un oligosaccharide accélérant la croissance de la 35 plante dans un rapport de 0,5 kg à 5,0 kg / ha.

Les valeurs numériques entre parenthèses sont les valeurs (%) de chaque cas, les valeurs moyennes du témoin étant posées comme égales à 100%.

- 5 Comme il ressort clairement du tableau 46, dans le cas de l'utilisation des semences revêtues de l'oligosaccharide à raison de 5γ à 100 γ par grain de semence, une action d'accélération de la croissance de 108 à 131% de la longueur tige-feuille et de 131 à 243% de la longueur des racines a été observée par comparaison avec le cas de l'utilisation des semences non revêtues par l'oligosaccharide.
- 10

décrit dans l'exemple 37 et 0,75% d'alginat de sodium sur une partie en poids des semences de Kaiware Daikon et en séchant les semences dans un courant d'air à 40-50°C.

5 Puis on place 50 grains des semences revêtues d'oligosaccharide ainsi obtenu sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on cultive les semences pendant 4 jours
10 dans l'obscurité à 23°C, puis pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux.

Pour le témoin, des semences de Kaiware Daikon non revêtues ont été cultivées de la même manière que ci-dessus. Les résultats obtenus sont
15 donnés dans le tableau 47.

Tableau 47

	Quantité d'oligosaccharide appliquée par grain de semence	Longueur moyenne tige-feuille	Longueur moyenne des racines
	(γ)	(cm)	(cm)
25	100	8,71 (131)	12,2 (243)
	50	8,37 (126)	10,8 (208)
	25	7,97 (120)	8,59 (165)
	5	7,17 (108)	6,83 (131)
	2.5	6,71 (101)	5,43 (104)
30	Témoin	6,64 (100)	5,21 (100)

(n = 25)

Tableau 46

	Echantillon	Quantité ajoutée (%)	Longueur tige-feuille (%)	Longueur des racines (%)
5	A	0,025	121	360
10	A	0,010	118	289
	A	0,005	110	204
	A	0,0025	108	196
	A	0,00025	99	143
15	B	0,025	99	102
	Témoin	0	100	100

(n = 36)

20 A : Oligosaccharide obtenu en décomposant
le Mannan produit par Saccharomyces
cerevisiae.

B : Saccharomyces cerevisiae.

25 Les valeurs numériques du tableau 46
sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille
et de la longueur des racines de Kaiware Daikon
dans chaque cas, celles des Kaiware Daikon du témoin
étant posées comme égales à 100%.

Exemple 45.

30 On prépare des semences de Kaiware Daikon
revêtus d'oligosaccharide dans les rapports indiqués
de 2,5 γ à 100 γ par grain de semence en pulvérisant
une partie en poids d'une solution aqueuse contenant
de 0,7% à 0,025% de l'oligosaccharide obtenu en
35 décomposant le polysaccharide produit par
Enterobacter cloacae FERM P-8968, par le procédé

Les nombres indiqués dans le tableau 45 sont les valeurs (%) de la longueur tige-feuille et de la longueur des racines de Kaiware Daikon dans chaque cas, celles relatives au témoin étant posées comme égales à 100%.

Exemple 44.

Après avoir dissous 100mg de Mannan, un polysaccharide du commerce produit par Saccharomyces cerevisiae, dans 100ml d'eau, on ajoute à la solution de l'acide chlorhydrique à une concentration finale de 0,1 N, et, après avoir effectué l'hydrolyse pendant 6 heures à 100°C, on neutralise le mélange réactionnel obtenu avec de l'hydroxyde de sodium. La solution contenant le produit de décomposition ainsi obtenu a été concentrée à 10ml et on l'a fait passer à travers une colonne remplie de Sephadex G-25 pour effectuer la dessalinisation et aussi pour recueillir une fraction contenant un oligosaccharide ayant un degré de polymérisation de 2 à 20. La fraction a été concentrée et séchée pour donner 36mg de l'oligosaccharide.

L'action d'accélération de la croissance des plantes de l'oligosaccharide ainsi obtenu et du polysaccharide avant décomposition ont été déterminées en utilisant des Kaiware Daikon. 36 grains des semences de Kaiware Daikon ont été placés sur un mat de résine synthétique disposé dans un récipient de verre, et après leur avoir ajouté 70ml d'eau du robinet, on a cultivé les semences pendant 4 jours dans l'obscurité à 23°C et pendant 2 jours sous une irradiation de 5000 lux. Dans ce cas, l'oligosaccharide, etc. a été ajouté à ceux-ci dans les rapports indiqués de 0,025% à 0,00025% par rapport à la quantité d'eau du robinet. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 46.